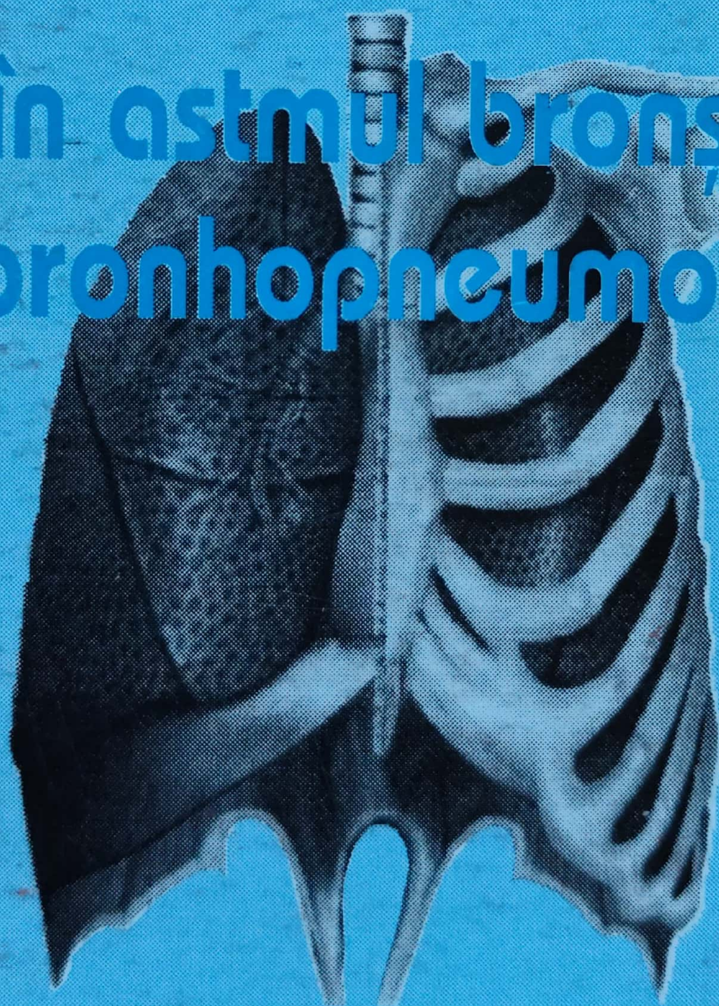
FRANCISC SCHNEIDER

ANA PETROIU

GEORGETA MIHALAȘ

BRONHOMOTRICITATEA

în astmul bronșic și bronhopneumopatii





EDITURA „VIAȚA MEDICALĂ ROMÂNEASCĂ"
1998

FRANCISC SCHNEIDER

ANA PETROIU **GEORGETA MIHALAȘ**

BRONHOMOTRICITATEA

în astmul bronșic și bronhopneumopatii

Mulţumim pentru sprijinul acordat la apariţia acestei cărţi Fundaţiei „Vasile Goldiş“ şi Universităţii de Vest „Vasile Goldiş“ din Arad.

AUTORI

Francisc Schneider

profesor de fiziologie, la Universitatea de Medicină şi Farmacie-Timişoara şi la Facultatea de medicină a Universităţii „Vasile Goldiş“ – Arad.

Ana Petroiu

profesor de fiziologie, la Universitatea de Medicină şi Farmacie-Timişoara şi la Facultatea de medicină a Universităţii „Vasile Goldiş“ – Arad.

Georgeta Mihalaș

conferenţiar de fiziologie, la Universitatea de Medicină şi Farmacie-Timişoara.

În colaborare cu asistenţii de la Catedra de fiziologie a Universităţii de Medicină şi Farmacie – Timişoara:

Carmen Bunu
Ioana Siska
Gabriela Tănasie

Redactor de carte: Dr. Laurenţiu REMBAS
Tehnoredactor: Ioan DUMITRENCO
Tehnoredactare computerizată şi coperta: Gina MANCIU
Operatori computer: Daniela RADU, Berta ALEXE
Corectură: Gina PETRESCU, Emil FRĂŢILĂ

ISBN 973-9320-20-1

FRANCISC SCHNEIDER

ANA PETROIU GEORGETA MIHALAȘ

BRONHOMOTRICITATEA

în astmul bronșic și bronhopneumopatii



Editura VIAȚA MEDICALĂ ROMÂNEASCĂ

București - 1998

CUPRINS



BRONHOMOTRICITY

in bronchic asthma and bronchopneumopaty

Francisc Schneider, Ana Petroiu and Georgeta Mihalaș

Contents

Cuvânt înainte

O dublă motivaţie m-a determinat să accept cu interes şi plăcere, a-mi prezenta sub această formă punctul de vedere asupra lucrării monografice elaborată de către colegii profesori Fr. Schneider, Ana Petroiu şi Georgeta Mihalaş de la şcoala medicală timişoreană.

Prima motivaţie priveşte acoperirea golului existent în literatura medicală de specialitate cu un material de ansamblu asupra factorilor de reglare a bronhomotricităţii normale şi patologice. Lucrarea răspunde unei necesităţi stringente de informare şi instruire a medicilor practicieni, cercetătorilor şi studenţilor interesaţi de stadiul actual al cunoştinţelor referitoare la particularităţile funcţionale şi bazale neuro-umorale şi celulare ale contractilităţii musculaturii netede de la nivelul căilor respiratorii.

Cea de-a doua motivaţie se referă la autorii lucrării, distinşi specialişti, cu o bogată şi îndelungată experienţă (de peste 20 ani) în domeniul cercetărilor experimentale şi explorărilor paraclinice a ventilaţiei pulmonare. Întregind datele noi din literatură cu rezultatele interesantelor cercetări personale, autorii realizează o valoroasă, utilă şi intens trăită operă ştiinţifică.

Cele opt capitole care compun lucrarea, tratează, rând pe rând, într-o manieră clară, sistematică şi cuprinzătoare, particularităţile morfo-funcţionale ale căilor respiratorii, tonusul şi responsivitatea bronşică, reglarea şi modularea contractilităţii musculaturii netede traheo-bronşice, studiul clinic şi paraclinic al bronhomotricităţii în astmul bronşic şi alte bronhopneumopatii.

Oferind cunoştinţe teoretice şi tehnice de mare actualitate şi utilitate, lucrarea se adresează astfel tuturor celor preocupaţi de cunoaşterea şi însuşirea achiziţiilor cognitive şi aplicative noi din domeniul bronhomotricităţii normale şi patologice.

Acestea sunt în esenţă, considerentele pentru care felicit pe autori şi recomand realizarea lor editorială întregului corp medical.

I. HAULICĂ

BRONCHOMOTRICITY
in bronchic asthma and bronchopneumopathy

By respiratory system mediation, on tens of square meters, the human body contacts directly the external air environment, circulating daily by respiration thousands of liters of air.

Air-contaminants, of various nature-gaseous or particles, get into respiratory airways where they act either directly – by their toxicity, or indirectly – by facilitating secondary action of infectious agents and/or local and general immunoallergic reactions.

The interest for a deeper insight into bronchomotricity intimity is justified by at least two reasons. On one hand, for medical practice – diseases with bronchospastic manifestation and bronchospasmolytic medication and, on the other hand, from a fundamental point of view, for the particular features of tracheobronchic smooth muscle.

Over two decades of research in this field carried by the physiology school of Timișoara, in both fundamental and application domains yielded an immense amount of both experimental and clinical research data, which, processed and filtered according to specialty references, became the basis of this handbook.

In the first part there are presented: the functional respiratory system, functional particularities of the tracheo-bronchic smooth muscle nervous regulation of tracheo-bronhic smooth muscle contractility, airway cellularity – role in bronchomotricity modulation, inflamation and bronchomotricity and bronchic responsivity.

The second part is dedicated to original experimental research of bronhomotricity, on isolated organ, approaching both constrictor and relaxing substances. Demonstration of the dual effect of alcohol as well as calcium channel blockers influence on bronchomotor tone are emphasized.

The final part is devoted to clinical studies on bronchomotricity, presenting both routine methods research as well as airway resistance studies. A high emphasis was put on pharmacodynamic tests and the value and the limits of various investigation methods are underlined.

INTRODUCERE ÎN BRONHOMOTRICITATE

Prin intermediul aparatului respirator, pe o suprafață de zeci de metri pătrați, organismul vine în contact direct cu mediul extern aerian, vehiculând zilnic, pe cale ventilatorie, mii de litri de aer.

Aerul pe care-l respirăm, atât în condițiile tehnologiei industriale și agricole, cât și a combustibililor din mijloacele de transport, a încălzirii domestice și, nu în ultimul rând, a fumului de tutun, poate constitui un factor perturbator ce favorizează, declanșează, întreține sau agravează o serie de afecțiuni respiratorii. Printre acestea se numără și afecțiunile bronhospastice.

Numeroase cercetări epidemiologice au stabilit o corelație netă între poluarea atmosferică și fenomenele bronhospastice. S-a semnalat chiar o relație doză-efect între concentrația unor aeropoluanți și gravitatea manifestărilor bronhospastice.

Aerocontaminanții de natură diferită, gazoși și particulați, pătrund în căile respiratorii, unde acționează fie direct, prin toxicitatea lor, fie indirect, prin favorizarea acțiunilor secundare ale agenților infecțioși sau/și prin reacții imunoalergice locale și generale.

Omul dispune de mecanisme de apărare față de poluanți. Capacitatea de apărare este însă limitată și se referă la poluanți accidentali, la care omul a fost expus din cele mai vechi timpuri (praf, fum). În plus se consemnează stări cu capacitate scăzută de apărare față de poluanții atmosferici. În această categorie intră tarele genetice manifestate prin deficit de IgA, deficit de α_1 – antitripsină etc. Un loc aparte îl ocupă persoanele atopice, cu predispoziție pentru fenomene alergice induse primar sau secundar de anumiți poluanți. Aceștia prezintă reacții în cerc vicios ce impietează asupra funcției respiratorii și, în același timp, reduc capacitatea de apărare, concomitent cu favorizarea infecțiilor ce amplifică dezechilibrul.

Consecințele sunt: iritația – inflamația locală și alterări structural-funcționale, cu eliberarea unor substanțe biologic active cu efect bronhoconstrictor.

Interesul pentru cunoașterea bronhomotricității este justificat cel puțin din două considerente: pe de o parte, pentru practica medicală, bolile cu manifestări bronhospastice și medicația bronhospasmolitică și, pe de altă parte, sub aspect fundamental, pentru particularitățile musculatorii netede traheobronșice.

Preocupările de peste două decenii ale școlii de fiziologie din Timișoara, atât în domeniul fundamental, cât și aplicativ, au permis adunarea unui imens material de cercetări experimentale și clinice, care, prelucrate și filtrate în lumina datelor bibliografice, au stat la baza acestei monografii.

1. CĂILE AERIFERE ŞI SISTEMUL FUNCŢIONAL RESPIRATOR

Sistemul funcţional respirator cuprinde o multitudine de subsisteme implicate în schimbul gazos al organismului cu mediul ambiant, cât şi în homeostazia oxigenului (asigurarea aportului, transportului, utilizării în metabolismul celular) şi a bioxidului de carbon (producerea, transportul şi eliminarea). În acest sistem sunt implicate în mod unitar numeroase alte subsisteme: reglatoare (neuro-umorale), efectoare (sistemul mecanic toraco-pulmonar), de schimb (alveolo-capilar), de transport (circulaţia sângelui) etc.

1.1. Organizare funcţională

În linii mari, în cadrul sistemului funcţional respirator, se detaşează doi poli: pulmonar (respiraţie pulmonară) şi celular (respiraţie celulară), legaţi între ei de sângele circulant.

Respiraţia pulmonară asigură mobilizarea aerului din atmosferă în plămâni şi din plămâni în atmosferă, precum şi schimburile gazoase dintre aerul alveolar şi sângele din capilarele pulmonare. Suportul structural al respiraţiei pulmonare cuprinde trei componente: un sistem de conducte aeriene (căile respiratorii), un sistem de transfer (ţesutul pulmonar) şi un sistem mecanic de pompă (toraco-pulmonar).

Căile respiratorii servesc pentru tranzitul bidirecţional al aerului între atmosferă şi alveole, asigură în acelaşi timp, pe de o parte, optimizarea aerului inspirat şi pe de altă parte, realizarea unor funcţii speciale, cum sunt olfacţia şi fonaţia.

Căile respiratorii pot fi divizate în trei zone:

a) Căile aerifere superioare, nazo-buco-faringiene, până la glotă;
b) Căile aerifere inferioare centrale, laringo-traheo-bronşice, până la conducte cu diametrul de 2 mm;
c) Căile aerifere inferioare periferice, bronhii cu diametrul de 2 mm şi bronhiolele.

Căile aerifere superioare reprezintă prima barieră împotriva aerocontaminanților particulați. Traseul lor angular constituie un sistem aerodinamic de filtrare, capabil să rețină 90% din particulele ce depășesc trei μm. În același timp are loc un proces de încălzire și de umectare a aerului inspirat pe seama mucoasei nazale bine vascularizate și a glandelor acinoase cu celule mucoase și seroase. Inervată senzitiv de trigemen, este zona reflexogenă a strănutului.

Inelul limfatic al laringelui are rol în apărarea antimicrobiană. Când respirația se face pe gură, efectele de barieră sunt mult mai reduse.

Căile aerifere inferioare centrale continuă optimizarea aerului inspirat. Mucoasa traheei și a bronhiilor proximale permite atât reținerea chiar a particulelor de sub 3 μm, cât și dizolvarea, în parte, a poluanților gazoși, cu eliminarea lor apoi prin mecanism mucociliar. Acest proces se desfășoară în continuare și, de asemenea, în căile inferioare periferice.

Terminațiile nervoase din mucoasa laringiană, traheală și bronșică constituie receptorii reflexului de tuse, cu căile aferente glosofaringiene și vagale. Tusea este declanșată de stimuli mecanici ce acționează electiv asupra laringelui, bifurcației traheei și pintenilor de bifurcație a bronhiilor mari, cât și de stimuli chimici ce acționează electiv asupra bronhiilor distale.

Deci arborele traheo-bronșic, pe lângă funcția de conducte aeriene, continuă optimizarea aerului inspirat. Este constituit dintr-o serie de tubi ramificați dicotomic, cu o structură epitelio-mezenchimală. În mucoasă predomină celulele ciliate și secretorii.

Submucoasa are glande bronșice până la bronhii cu diametrul de 2 mm, ale căror conducte se deschid pe suprafața mucoasei. Cartilajul, în formă de potcoavă, are o structură unitară până la nivel lobar, apoi se fragmentează și se reduce treptat, ca la bronhiolele mari să lipsească. Partea liberă de cartilaj este ocupată de fascicule musculare. Spațiul peribronșic are un bogat țesut limfatic.

Bronhiile sunt canale independente de țesutul pulmonar, care, prin divizare dicotomică de zece ori (2^{10}), ajung la aproximativ 1000 ramificații, corespunzător celor mai mici bronhii cu cartilaj, cu diametrul de până la 2 mm. Tunica lor musculară în ramurile mici este formată din fibre dispuse spiralat sau circular, cu rol în reglarea lumenului. Bronhiile mici, cu diametrul de sub 2 mm ($2^{11} - 2^{12}$) sunt lipsite de cartilaj, contractilitatea musculaturii fiind mai eficientă față de cele cu cartilaj. Acestea se continuă cu bronhiole, cu diametrul mai mic de 1 mm, incluse organic în țesutul pulmonar cu care se continuă ($2^{13} - 2^{15}$). Bronhiola terminală reprezintă de obicei a treia generație de bronhiole (2^{16}). Are o puternică musculatură al cărui tonus mediu conferă un diametru de 0,2 mm, care, sub acțiune simpato-adrenală, poate crește la 0,5 mm, iar prin constricție, poate produce excluderea totală a teritoriului acinar pe care îl deservește. În interiorul acinului,



bronhiola terminală dă naştere la 2–3 generaţii de bronhiole respiratorii sau alveolare (2^{17} – 2^{19}), prevăzute cu fascicule dispersate de muşchi neted; nu mai sunt simple canale, ci participă la schimbul gazos prin faptul că prezintă pe alocuri epiteliu alveolar.

Ţesutul pulmonar propriu-zis începe cu canalele alveolare, a 20-a generaţie de ramificaţii dicotomice. Acestea, cât şi următoarele 1–2 generaţii de canale alveolare ce se mai pot forma, au un diametru egal cu al bronhiolei respiratorii şi terminale, comunică prin atriu cu sacul alveolei. La nivelul lor fascicolele de fibre musculare netede au o dispunere de tip sfincterian.

Musculatura netedă a arborelui traheo-bronşic are o funcţionalitate influenţată de structurile perimusculare, atât în condiţii normale cât şi, în special, în condiţii patologice. Astfel, epiteliul traheo-bronşic nu este numai o barieră fizică cu implicaţii în clearance-ul mucociliar, ci are rol în modularea tonusului bronhomotor, celulele perimusculare au un rol trofic, rol în apărare şi, de asemenea, rol modulator.

Sistemul mucosecretor este reprezentat de epiteliul bronşic şi glandele bronşice, dar mixtura reprezentând mucusul este atât producţia celulelor mucoase şi seroase, cât şi a celulelor ciliate, celulelor bazale, alveolocitelor, la care se adaugă transsudatul întregii suprafeţe bronhoalveolare. Are un conţinut de 95% apă, 2–3% glicoproteine şi proteine, 0,1–0,5% proteoglicani şi 0,5–1% lipide. În mod normal se produce o cantitate de 10–100 ml/zi mucus, mai intens în căile bronşice mici, scăzând pe măsura deplasării orale, prin resorbţia componentei apoase la nivelul microvilozităţilor celulelor epiteliale ciliate.

Mucusul este un lichid vâsco-elastic ce căptuşeşte lumenul traheo-bronşic, în grosime de 5–7 µm. Este format din două straturi, fluidul periciliar seros şi gelul fibrilo-reticular, vâscos. Acesta din urmă formează un covor rulant de mucus în grosime de 0,5–2 µm ce pluteşte deasupra fluidului periciliar şi este propulsat de mişcarea ciliară. Fluidul seros conţine surfactantul – produsul alveolocitelor, ce are în compoziţie fosfolipide tensioactive, compuşi ai lecitinei (lecitină dipalmitică şi palmito-miristică).

Graţie surfactantului, tensiunea superficială a peliculei apoase de la suprafaţa alveolelor este de 20–25 dyne/cm (în loc de 72 dyne/cm, cât are apa), cu variaţii în raport cu fazele ciclului respirator. În expir, deflaţia determină micşorarea tensiunii superficiale, împiedicând colabarea alveolelor, ceea ce asigură continuitatea schimbului gazos. În inspir tensiunea superficială atinge 40 dyne/cm, constituind un factor oponent inflaţiei, evitând supradistensia spaţiilor aeriene şi contribuind în parte la revenirea elastică în cursul deflaţiei.

Surfactantul are rol şi în asigurarea lumenului bronhiolar, cât şi în menţinerea „uscată" a alveolelor. De asemenea, surfactantul dizolvă şi neutralizează poluanţii gazoşi, iar printr-o continuă deplasare orală, asigură „curăţirea" alveolelor.



Pe lângă sistemul mucosecretor, la clearance-ul mucociliar participă celulele cilindrice ciliate ale mucoasei traheobronşice (fiecare celulă posedând aproximativ 200 cili) ce asigură transportul ciliar al mucusului. Vibraţia ciliară se desfăşoară în cuprinsul fazei de sol a mucusului, printr-un mecanism asemănător contracţiei miofibrilare. O bătaie ciliară are doi timpi, un timp rapid – de contracţie şi un timp mai lung – de relaxare. Mişcarea ciliară se realizează în valuri metacronale, un şir de cili după altul, în sensul oral.

Ritmul vibraţiilor este reglat de un pacemaker, asumat de cilii distali ai unui val metacronal.

Vibraţia optimală de 17–27 Hz, se realizează numai în condiţiile de grosime şi structură adecvată a stratului de mucus, precum şi la o temperatură de 35–38°C. În aceste condiţii, viteza clearance-ului bronşic, asigurată de covorul mucociliar, este de 0,1–0,4 mm/min în bronhiolele distale, creşte progresiv în bronhii, ca în bronhiile mari să atingă 1,3–5 mm/min, iar în trahee până la 20 mm/min. Astfel că 90% din particulele dispuse pe covorul mucociliar se elimină în decurs de o oră, epuraţia completă realizându-se în 6–12 ore. Transportul mucociliar ajunge până la urmă în cavitatea buco-faringiană şi este eliminat în mod normal pe cale digestivă, prin deglutare sau, în cazuri de hipersecreţie bronşică, prin tuse şi expectoraţie.

Tusea facilitează transportul mucociliar, accelerând propulsia covorului de mucus şi favorizând expectorarea lui. Tusea eficientă este cu „jumătate forţă". Alterările reflexului de tuse reduc clearance-ul bronhopulmonar.

Optimizarea clearance-ului mucociliar se realizează dependent de acţiunea poluanţilor, starea mucoasei traheo-bronşice, influenţe endocrino-umorale şi medicamentoase.

Celulele mucipare seroase secretă sub acţiunea directă a iritanţilor locali, pe când glandele bronşice secretă sub acţiunea inervaţiei vagale.

Transportul mucociliar este stimulat de substanţele adrenergice (atât α, cât şi β), aminofiline, digitalice. Factorii ciliodepresori sunt: fumatul, SO_2, NO_2, O_3, hiperoxia prelungită, uscăciunea excesivă, temperatura sub 5°C şi peste 43°C, precum şi stările de avitaminoză A, hipotiroidia, excesul de estrogeni. Depresia ciliară se mai consemnează şi sub acţiunea alcoolului, anestezicelor, opiaceelor şi atropinei.

Agenţii infecţioşi, bronhopneumopatiile acute şi cronice, mucoviscidoza, astmul bronşic, perturbă clearance-ul mucociliar, respectiv cauzează, însoţesc şi-l alterează.

Bronhomotricitatea normală este dependentă şi de un clearance mucociliar eficace, deoarece poluanţii gazoşi, particulele de praf anorganice şi organice, microorganismele acţionează direct sau indirect asupra musculaturii bronhice. Sunt de menţionat, în acest sens, efectele protectoare pentru tonusul bronhomotor normal, neutralizarea aerocontaminanţilor acizi, bacteriostaza şi bactericidia (IgA

secretorie, lizozim), inactivarea unor particule antigenice (imunoglobuline, enzime proteolitice, inactivarea proteazelor eliberate de microorganisme şi leucocite (antiproteaze, α_1– antitripsina), inactivarea speciilor reactive ale oxigenului (efecte de scavenger ai compuşilor disulfurici ai mucusului, transferina), inactivarea kininelor vasoactive şi bronhoconstrictoare (sialomucinele).

Concluzionând, căile aerifere în ansamblu lor, clearance-ul mucociliar, tonusul bronhomotor, fac posibil nu numai transportul optim al aerului la şi de la suprafaţa de schimb alveolară, dar conferă şi rolul de barieră faţă de acţiunile agresive ale unor componenţi ai aerului poluat.

1.2. Relaţia căi aerifere – flux aerian

În cadrul suportului structural al respiraţiei pulmonare, sistemului de conducte aerifere ce alcătuiesc căile respiratorii îi revine rolul asigurării tranzitului gazos impus de sistemul mecanic de pompă toraco-pulmonar. Introducerea şi evacuarea aerului în procesul ventilaţiei se realizează datorită producerii unor diferenţe de presiune dintre atmosferă şi plămâni. Gradientul de presiune este determinat de modificările de volum ale spaţiului alveolar, produse la rândul lor de variaţiile de volum ale cutiei toracice şi influenţate de rezistenţa opusă fluxului de aer prin căile respiratorii. Variaţiile de volum la rândul lor, sunt posibile graţie muşchilor respiratori şi elasticităţii sistemului, forţa activă musculară depăşind forţa pasivă opozantă mişcării. Forţa opozantă depinde de trei componente:

a) componenta statică, poziţională – volumul sistemului
b) componenta dinamică – de viteză
c) componenta dinamică – de acceleraţie.

Aceste forţe opozante sunt generate de proprietăţile mecanice ale aparatului respirator, condiţionate de particularităţile structurale ale aparatului toraco-pulmonar, la care se adaugă proprietăţile mecanice ale aerului vehiculat.

Acestea sunt reprezentate de: elastanţa, vâscanţa şi inertanţa.

Elastanţa are o componentă toracală şi o componentă pulmonară. Componenta pulmonară este constituită din ţesutul elastic pulmonar şi din surfactantul alveolar. Este în funcţie de volumul sistemului, variaţia de volum induce reculul elastic (proporţional cu volumul).

Vâscanţa este datorată rezistenţelor prin frecare. Are o componentă tisulară, răspunzătoare de 20% din vâscanţă, şi o componentă gazoasă, căreia îi revine 80%. Componenta tisulară, structurile neelastice toraco-pulmonare, generează o frecare externă. Componenta gazoasă, trecerea aerului în căile respiratorii, generează frecare internă a moleculelor de gaz între ele şi cu pereţii canalelor, depinde de viteza variaţiei de volum şi a fluxului de aer.

Inertanţa este generată de rezistenţele prin inerţia sistemului, care se actualizează la punerea în mişcare, la schimbarea vitezei sau a sensului pompei. Are două componente: tisulară şi gazoasă. Componenta tisulară este reprezentată de inerţia plămânilor şi a peretelui toracic şi este neglijabilă la frecvenţe respiratorii de până la 100 cicli/minut.

Componenta gazoasă depinde de regimul de curgere turbulentă a aerului, deci în funcţie de acceleraţia debitului, neglijabilă, de asemenea, în condiţiile ventilaţiei obişnuite.

Pentru a realiza mişcările ventilatorii, adică a sistemului gaz-plămân-torace, forţa musculară trebuie să învingă, pe de o parte, forţa opozantă statică – elastică şi pe de altă parte, forţele opozante dinamice provocate de forţele de frecare – vâscoase şi de inerţia sistemului.

O bună parte din forţa musculară, pe baza căreia se produce fluxul de aer în căile respiratorii, se adresează rezistenţei la flux determinată de forţele de frecare, care cuprinde rezistenţa la flux a căilor aerifere (Raw) şi rezistenţa ţesuturilor neelastice.

Rezistenţa la flux se poate exprima, analog legii lui Ohm, ca fiind direct proporţională cu forţa musculară care generează gradientul de presiune şi invers proporţională cu fluxul aerian.

Rezistenţa la flux în căile aerifere (Raw) se măsoară pe baza gradientului de presiune buco-alveolar şi a debitului de aer vehiculat sub acţiunea forţelor musculare puse în joc. Randamentul transportului de aer se apreciază pe baza pierderii de energie mecanică, respectiv a pierderii de presiune dintre capătul bucal şi alveolar al căii respiratorii, deoarece frecarea dintre moleculele de gaz şi dintre aer şi conducte consumă o parte din energia mecanică furnizată de contracţia muşchilor respiratori.

În ventilaţia de repaus, Raw constituie 80% din rezistenţa totală la flux, fiind dependentă de factorii somatometrici, vârstă, amplitudinea respiraţiei, geometria căilor aerifere, faza ciclului respirator (inspir-expir), mărimea fluxului de aer şi în mod special regimul de curgere al aerului.

În căile respiratorii regimul de curgere al aerului poate îmbrăca trei aspecte: laminar, turbulent şi curgere în condiţii de intrare.

Regimul de curgere laminară se desfăşoară în virtutea legii Hagen–Poiseuille, până la atingerea vitezei critice. În acest caz rezistenţa opusă la curgerea aerului este direct proporţională cu coeficientul de vâscozitate al aerului şi cu lungimea tubului şi invers proporţională cu puterea a patra a razei tubului. Astfel că variaţiile diametrului căilor respiratorii constituie un factor principal al rezistenţei la flux, scăderea diametrului implicând creşterea exponenţială a presiunii şi deci a travaliului ventilator, în vederea menţinerii aceluiaşi flux.

Regimul de curgere turbulentă fiind dependent de viteză şi, ca atare, direct proporţional cu gradientul de presiune şi rază, se poate întâlni numai în căile

respiratorii mari. Astfel că, în ventilația de repaus curgerea turbulentă este prezentă numai la nivelul laringelui, creșterea ventilației inducând apariția acesteia și în trahee și bronhiile mari.

Bifurcarea continuă a căilor bronșice adoptă o formă aparte a fluxului aerian – regim de curgere în condiții de intrare, prin faptul că profilul vitezelor se modifică la fiecare bifurcare (straturile centrale devenind periferice). Regimul de curgere în condiții de intrare este cauza unui consum considerabil de energie mecanică suplimentară ce determină pierdere de presiune, cam de aceeași valoare ca și în regimul de curgere turbulent.

Rezistența la flux în căile aerifere se distribuie astfel:

– pe traseul gură-laringe-trahee: 40%

– pe traseul bronhii-bronhiole: 50%

– pe traseul ultimelor conducte: 10%.

Cea mai mare parte din Raw are loc pe traseul laringe-trahee și bronhii mari, procesele stenozante la acest nivel determină o pronunțată creștere a ei, în schimb o îngustare moderată a căilor aerifere periferice nu o modifică semnificativ.

Diametrul căilor aerifere variază proporțional cu volumul plămânului, variație mai marcată în bronhiile mari. Ca atare Raw va prezenta variații invers proporționale cu volumul pulmonar, crescând la volume pulmonare mici și scăzând la volume mari. Aceasta se explică prin tracțiunile exercitate de componentele elastice pulmonare asupra bronhiilor și bronhiolelor; creșterea volumului făcând să crească tracțiunea, crește diametrul, iar micșorarea volumului scăzând tracțiunea, reduce diametrul conductelor și crește rezistența. Ca atare, în expir, cu cât acesta este mai profund, cu atât rezistența crește.

Aerul circulă în căile respiratorii sub presiune, realizând în bronhii presiunea intrabronșică. Din afara lor se exercită o presiune peribronșică dependentă în final de valoarea presiunii pleurale. Diferența dintre presiunea ce se exercită din interior asupra pereților conductelor și presiunea aplicată din exterior asupra lor, se numește presiune transmurală.

În condiții statice, presiunea transmurală este pozitivă și, de aceea, conductele aerifere tind să-și mărească volumul cu atât mai mult, cu cât plămânii sunt mai umpluți cu aer. În inspir tendința la dilatare crește. În expirul forțat calibrul conductelor aerifere suferă variații după cum presiunea intrabronșică este mai mare sau mai mică decât presiunea pleurală.

Punctul la care presiunea intrabronșică și pleurală sunt egale se numește punctul de presiuni egale (PPE). PPE împarte conductele aerifere în două segmente:

a) un segment dilatabil, periferic, de la alveole la PPE și

b) un segment comprimabil, central, de la PPE la trahee.

La volume pulmonare mari, peste 75% din capacitatea vitală, PPE este situat în trahee, deci debitul creşte proporţional cu presiunea pleurală. Pe măsură ce volumul pulmonar diminuă cu expiraţia, PPE coboară şi se plasează la nivelul bronhiilor subsegmentare, cu atât mai jos cu cât reculul elastic pulmonar este mai mic.

Reculul elastic pulmonar menţine presiunea pleurală şi peribronşică la o valoare inferioară presiunii alveolare, opunându-se colabării segmentului situat distal de PPE. Segmentul central (deasupra PPE) este comprimat de presiunea pleurală, ca atare bronhiolele fiind lipsite de cartilaj, colabează când presiunea transmurală coboară sub o valoare critică, între 0 şi – 0,2 kPa. Deci la volumele pulmonare mici, sub 75% din capacitatea vitală, fluxul aerian nu mai este proporţional cu presiunea pleurală şi forţa musculară, ci depinde numai de mărimea reculului elastic. Volumul pulmonar la care, în cursul unei expiraţii complete, începe să colabeze căile respiratorii mici este denumit volum de închidere a căilor aerifere *(closing volume)*. La tânărul sănătos, cu recul elastic normal, volumul de închidere este aproape de volumul rezidual. Pe măsură ce se înaintează în vârstă, scăderea reculului elastic face ca volumul de închidere să se apropie din ce în ce mai mult de capacitatea reziduală funcţională.

Musculatura netedă bronşică are un rol important în optimizarea fluxului aerian prin căile bronşice. Astfel, creşterea tonusului bronhomotor în expir participă la menţinerea lumenului bronhiolar la volume pulmonare mici. Disfuncţia manifestată prin relaxarea respiratorie a musculaturii bronhice, micşorând tracţiunea radială exercitată asupra pereţilor bronşici, în special ai celor lipsiţi de suport cartilaginos, contribuie la îngustarea lumenului lor şi la atingerea mai rapidă a volumului de închidere.

La celălalt pol se situează bronhospasmul, care creşte considerabil rezistenţa la flux, mai ales în expiraţia forţată. Acest aspect este ilustrat convingător de travaliul ventilator, respectiv de costul ventilaţiei. Se ştie că travaliul ventilator creşte cu debitul ventilator în progresie geometrică, în special datorată rezistenţei la flux.

Astfel că, dacă în condiţii de repaus costul de O_2 reprezintă 0,5 ml pentru un litru de aer ventilat, în efortul intens atinge şi poate depăşi de zece ori această valoare. În criza de astm bronşic, travaliul ventilator, respectiv costul de oxigen al ventilaţiei, chiar la niveluri ventilatorii foarte joase, atinge valori echivalente cu cele necesare unui efort intens.

BIBLIOGRAFIE

1. SCHNEIDER F., BUDIU T., (1965) – *Consideraţii asupra fiziologiei respiraţiei externe la copii. Valoarea spirografiei. Activitatea ştiinţifică,* Institutul de medicină Timişoara, 136–137.

2. SCHNEIDER F., NEAGOE D., (1965) – *Respiraţia – elemente de fiziologie specială.* Institutul de medicină Timişoara.



3. MÎRZA A., SCHNEIDER F., TULEA E., (1965) – *Contribuţii la studiul reglării ventilaţiei pulmonare: rolul mediatorilor chimici.* St. cerc. fiziol., 10/6: 559–567.

4. MÎRZA A., SCHNEIDER F., TULEA E., (1966) – *Contribuţii la studiul reglării chimice a ventilaţiei pulmonare: rolul ionilor K, Na şi Ca.* St. cerc. fiziol., 11/1:45–50.

5. PĂUNESCU-PODEANU A., ZOSIN P., SCHNEIDER F., (1966) – *Tulburările cerebrale din cordul pulmonar cronic. Confruntări clinice, hemodinamice, ventilatorii, biochimice.* Volum omagial Ion Enescu, Ed. Acad. R.S.R., 243–250.

6. SCHNEIDER F., NEAGOE D., (1972) – *Limitele spirografiei în explorarea respiratorie.* Timişoara medicală, 17/1:44–49.

7. SCHNEIDER F., BIROAŞIU I., (1972) – *Consideraţii asupra disfuncţiei ventilatorii în silicoză.* Viaţa medicală, 19/8: 353–355.

8. NEAGOE D., SCHNEIDER F., (1977) – *Corelaţiile ventilometriei cu deficitul alfa-1-antitripsină în bronhopneumopatiile supurative cronice.* Pneumoftiziologie, 26/1: 55–58.

9. MIHALAŞ G., BANDU-SCHNEIDER L., DINU I., PETROIU A., ALSTER A., SCHNEIDER F., (1985) – *Studiul ventilometric al reactivităţii beta-receptorilor la astmatici.* Simpozion de farmacodinamie, Timişoara, 221–225.

10. SCHNEIDER F., PETROIU A., MIHALAŞ G., ŞTEFĂNIGĂ P., (1985) – *Fiziologia respiraţiei.* Institutul de medicină Timişoara.

11. MUNTA A., GOŢIA S., SCHNEIDER F., (1987) – *Aspects of tonus modulation in guinea pig tracheal muscle.* Rev. roum. Physiol., 24/2: 115–118.

12. MIHALAŞ G., SCHNEIDER F., PETROIU A., MIHALAŞ G. I., (1989) – *Computer techniques in bronhomotricity functional investigation and experimental research.* Timişoara medicală, 34-suppl.: 47–50.

13. SCHNEIDER F., PETROIU A., MIHALAŞ G., DRAGOMIR A., MĂTIEŞ R., (1991) – *Acţiunea Nifedipinei asupra contracţiei induse de acetilcolină pe spirala de trahee de cobai.* Fiziologia–Physiology, 1/1: 17–20.

14. OPREA T. I., (1992) – *Studii teoretice şi experimentale asupra β-adrenoreceptorului din sistemul respirator.* Teză de doctorat, UMF Timişoara (Conducător ştiinţific: F. Schneider).

15. PETROIU A., MIHALAŞ G., COSTE O., SCHNEIDER F., (1993) – *Model experimental pentru studiul motricităţii musculaturii netede a căilor aerifere.* Cercetări experimentale medico-chirurgicale, 1/1: 35–38.

16. PETROIU A., MIHALAŞ G., SCHNEIDER F., (1993) – *Experimental studies concerning nifedipine action on histamine induced contraction of guinea pig tracheal spiral.* Fiziologia – Physiology, 3/1–2: 35–42.

17. MIHALAŞ G., PETROIU A., SISKA I., TĂNASIE G., MEDERLE C., BUNU C., SCHNEIDER F., (1993) – *Experimental studies on human bronchial smooth muscle in vitro.* Romanian Journal of Physiology, 30/3–4: 161–166.

18. MIHALAŞ G., (1993) – *Cercetări experimentale şi clinice privind implicaţiile calciului şi a blocantelor canalelor de calciu în reglarea bronhomotricităţii.* Teză de doctorat, UMF Timişoara (Conducător ştiinţific: F. Schneider).

19. BUNU C., BILŢIU D., MIHALAŞ G., TUDORACHE V. M., SCHNEIDER F., (1994) – *Rezistenţa la flux a căilor traheo-bronşice – metoda optimă de investigare a eficienţei tranzitului aerian.* Cercetări experimentale medico-chirurgicale, I/4: 45–50.

20. MIHALAŞ G., PETROIU A., MEDERLE C., MIHALAŞ G. I., SCHNEIDER F., (1994) – *Modelling of neuromodulation in airways.* Fiziologia-Physiology, 4/1–2:45–49.

21. PETROIU A., MIHALAŞ G., SCHNEIDER F., SISKA I., TĂNASIE G., (1994) – *Comparative effect of nifedipine and verapamil on histamine induced contraction of tracheal smooth muscle.* Fiziologia-Physiology, 4/3–4: 29–35.

22. SCHNEIDER F., BUNU C., BILŢIU D., TUDORACHE V. M., TĂNASIE G., BOGDAN M., (1995) – *Airway resistance measurement use in monitoring tracheo-bronchial responsiveness.* Fiziologia-Physiology, 5/1–2 (7): 6–12.

23. BUNU C., SCHNEIDER F., PĂUNESCU V., TUDORACHE V. M., VANCEA D., (1995) – *Effects of corticosteroids on the recruiment and function of bronchoalveolar lavage cells in asthmatic patients.* Fiziologia-Physiology, 5/1–2(7): 13–16.

24. PETROIU A., MEDERLE C., TĂNASIE G., SCHNEIDER F., (1995) – *Ethanol effects on guinea pig tracheal smooth muscle.* Fiziologia-Physiology, 5/1–2 (7): 17–20.

25. MIHALAŞ G., PETROIU A., SCHNEIDER F., TUDORAN M., MIHALAŞ G. I., (1995) – *Nifedipine effects on bronchomotor responsiveness in single doses.* Fiziologia-Physiology, 5/1–2 (7): 21–24.

26. MEDERLE C., SCHNEIDER F., (1995) – *The constrictor effect of acetylcholine by enhanced hydrogen peroxide in guinea pig isollated tracheal muscle.* Fiziologia-Physiology, 5/1–2 (7): 25–26.

27. TĂNASIE G., SISKA I., MEDERLE C., PETROIU A., MIHALAŞ G., SCHNEIDER F., (1995) – *Nifedipine effect on acetylcholine induced contraction of human bronchial smooth muscle.* Fiziologia-Physiology, 5/1–2 (7): 27–30.

28. BUNU C., SCHNEIDER F., PĂUNESCU V., TUDORACHE V. M., VANCEA D., (1996) – *The variation of integrin expression on the leukocytes subpopulations in asthmatic patients.* Fiziologia-Physiology, 6/1 (9): 8–11.

29. SCHNEIDER F., BUNU C., TĂNASIE G., MEDERLE C., PĂUNESCU V., (1996) – *Human bronchial responsiveness. Local mechanism of modulation.* Fiziologia-Physiology, 6/3 (11): 7–13.

30. PETROIU A., SISKA I., MEDERLE C., TĂNASIE G., (1996) – *Experimental research on calcium channels blockers and bronchoconstrictor agents association.* Fiziologia-Physiology, 6/3 (11): 20–27.

31. BUNU C., MIHALAŞ G., (1996) – *Ventilometric tests and raw evaluations.* Fiziologia-Physiology, 6/3 (11): 31–34.

32. SISKA I., CRÂSNIC D., SCHNEIDER F., (1996) – *Endothelins: sources, receptors and roles in the respiratory system, possible implications in some respiratory disorders.* Fiziologia-Physiology, 6/4 (12): 3–9.

33. SCHNEIDER F., SISKA I., TĂNASIE G., CRÂSNIC D., (1996) – *Rolul factorilor derivaţi din endoteliu în modularea tonusului bronhomotor.* Timişoara medicală 41/3–4: 5–12.

34. PETROIU A., SISKA I., TĂNASIE G., MIHALAŞ G., SCHNEIDER F., (1997) – *In vitro experiments concerning ethanol effects on guinea pig tracheal smooth muscle.* Fiziologia-Physiology, 7/2 (14): 21–26.

35. SISKA I., BUNU C., TĂNASIE G., CRÂSNIC D., LAZĂR D., SCHNEIDER F., (1997) – *The effect on inhaled salmeterol on exercise-induced bronchoconstriction.* Fiziologia-Physiology, 7/4 (16): 11–19.

2. PARTICULARITĂȚI FUNCȚIONALE ALE MUSCULATURII NETEDE TRAHEO-BRONȘICE

Structura căilor respiratorii traheo-bronșice include posibilitatea variației de calibru în vederea optimizării fluxului aerian.

La nivelul traheei arcul cartilaginos prezintă la extremități, pe pericondrul intern și în interiorul membranei fibroase adiacente, inserția fasciculelor de fibre musculare ce formează mușchiul *transversus tracheae.* Când se contractă, mușchiul apropie extremitățile arcului și, în același timp, tensionează mucoasa suprajacentă.

Bronhiile de ordinul unu prezintă fasciculele musculare dispuse ca la trahee. Următoarele generații de bronhii au tunica musculară în interiorul tunicii fibroase, formată din fascicule dispuse circular sau spiralat continuu.

Bronhiolele prezintă mușchii lui Reisseissen bine reprezentanți față de calibrul lor.

Conductele intraacinare au fibrele musculare cu dispunere sfincteriană iar, pe lângă acestea, se mai întâlnesc rare fibre musculare dispersate în septurile interalveolare și alveoloductale.

Toate aceste formațiuni musculare sunt reprezentate de fibre musculare netede cu caracteristici generale comune cu alte fibre musculare netede de tip unitar, dar și cu particularități ce rezultă, în special, din responsivitatea lor specifică față de substanțele biologic active, endo- și exogene.

2.1. Structura funcțională a fibrei musculare netede a căilor respiratorii

Fibrele musculare netede au un aspect fusiform, cu lungimea de 0,5 mm și diametrul de 5–50 μm. Conțin nucleul situat central, un aparat Golgi în vecinătatea nucleului, iar la periferie aparatul contractil: miofilamente și corpii denși.

Cantitativ, mitocondriile sunt slab reprezentate şi permit o producţie scăzută de ATP, de numai 10% din producţia fibrelor musculare striate. În homeostazia calciului, rolul mitocondriilor este minor în condiţii fiziologice.

Reticolul sarcoplasmatic este puţin dezvoltat şi reprezintă 2–5% din volumul celular total. Cu toate acestea joacă un rol important în stocarea şi eliberarea ionilor de Ca^{2+}.

Filamentele de actină şi miozină nu au un aranjament în discuri şi datorită acestui fapt nu prezintă striaţii în microscopia optică. Conţinutul de actină şi tropomiozină este de două ori mai crescut, iar cel de miozină de patru-cinci ori mai scăzut în comparaţie cu fibrele musculare striate şi, în consecinţă, un filament de miozină este înconjurat de 10–15 filamente de actină.

Sarcolema fibrelor musculare netede nu prezintă tubi T, dar la nivelul ei se pot deosebi zone de specializare morfo-funcţională, care nu sunt prezente la fibrele musculaturii scheletice: caveolele şi joncţiunile intercelulare.

Caveolele sunt dispuse în şiruri paralele cu axul longitudinal al fibrei şi pătrund foarte puţin în adâncimea fibrei. Ele ar fi implicate în homeostazia intracelulară a calciului (POPESCU L. M., 1987). Prin prezenţa lor, suprafaţa este crescută. Sunt prelungiri ale spaţiului extracelular în interiorul fibrei musculare netede.

Corpii denşi sunt formaţiuni ultrastructurale specifice fibrelor musculare netede. Apar distribuiţi relativ dezordonat printre miofilamente şi conţin alfa-actina şi, posibil, filamina, formaţiuni citoplasmatice de ancorare a filamentelor de actină (POPESCU L. M., 1987). Par a delimita „minisarcomere" analoage sarcomerelor muşchiului striat (MARTHAN R., 1994).

În arhitectura ţesutului muscular neted, elemenul specific este fasciculul, format din 20 – 100 fibre musculare cu orientare similară. Între fibrele musculare există cel puţin trei tipuri de joncţiuni intercelulare: ● joncţiuni comunicante *(gap-jonction)* – 1% din suprafaţa fibrei musculare netede; sunt căi intercelulare de rezistenţă scăzută, ceea ce asigură trecerea rapidă a semnalului electric de la o celulă la alta; de asemenea, permit trecerea unor ioni şi molecule mici ● joncţiuni intermediare, cu rol de solidarizare intercelulară, semnificaţie funcţională mecanică, cât şi apoziţii prin proiecţii digitiforme. Datorită lor, până la aplicarea microscopiei electronice s-a crezut că muşchiul neted ar fi un sinciţiu ● joncţiuni strânse, ce permit un cuplaj electric între celule, au o densitate relativ mare la nivelul musculaturii traheale, pentru ca apoi să scadă progresiv în bronhii, iar după bronhiile de a patra generaţie, să dispară (DANIEL E. E., 1986). Prezenţa unui număr scăzut de joncţiuni strânse este caracteristică fibrelor musculare netede bronşice din căile respiratorii cu normo-responsivitate.

Din punct de vedere funcţional, anumite componente biochimice din structura sarcolemei servesc ca suport molecular al mecanismului de transducţie membranară a mesajelor extracelulare. Astfel, fosfoinozitidele generează metaboliţi

cu rol de mesageri secunzi intracelulari, iar proteinele membranare sunt implicate în transducţia membranară ca receptori, canale ionice, enzime cu rol în metabolismul fosfoinozitidelor sau pompe ionice.

Potenţialul de membrană al celulelor muşchiului neted din căile respiratorii este între -45 – -160 mV (SMALL R. C., 1988) şi nu prezintă oscilaţii spontane. Un aspect caracteristic este tendinţa remarcabilă a membranei pentru rectificarea electrică ce urmează unui stimul depolarizant. Acest aspect rectificator s-ar datora deschiderii canalelor de potasiu voltaj-dependente de înaltă conductanţă, activate de calciu.

2.2. Proteinele contractile şi reglatoare ale fibrei musculare netede traheo-bronşice

Componentele proteice ale elementelor contractile, cât şi cele reglatoare sunt similare cu cele existente în alţi muşchi netezi şi ele includ: miozina, actina, tropomioniza, caldesmona, calponina, calmodulina, kinaza lanţului uşor miozinic şi fosfatazele proteice.

2.2.1. Miozina

Miozina musculaturii netede a căilor aerifere este o moleculă hexamerică formată din două lanţuri grele de 200 kDa, două lanţuri uşoare de 20 kDa şi două lanţuri uşoare de 17 kDa. Molecula este compusă dintr-o regiune coadă, cuprinsă în filamentul gros şi o regiune cap globular (subfragment S), ce conţine domeniul ce leagă actina şi locul catalitic pentru hidroliza ATP. Subunităţile reprezentate de lanţuri uşoare se găsesc în dreptul colateralelor lanţului miozinic.

Lanţul uşor de miozină de 20 kDa reprezintă substratul de acţiune al kinazei lanţului uşor miozinic (MLCK). Fosforilarea lanţului uşor de 20 kDa de către MLCK Ca^{2+} calmodulin dependentă ar fi mecanismul dominant al activării Mg-ATP-azei miozinice. De asemenea, fosforilarea lanţului uşor afectează starea conformaţională a miozinei, adică promovează tranziţia din conformaţia îndoită la conformaţia extinsă a miozinei, care este astfel capabilă să se asambleze în miofilamente.

În muşchiul neted traheal de bovine, forţa este liniară cu fosforilarea acestui lanţ uşor (KAMM K. E., 1989 b).

Lanţurile grele miozinice pot fi fosforilate *in vitro* de către proteinkinaza C şi de calmodulinkinaza activată (HATHAWAY D. R., 1989). Fosforilarea lanţului greu apare în cultura de celule musculare netede traheale, stimulate cu ionomycină sau cu forbol-dibutyrat. Probabil că ionomycina creşte Ca^{2+} intracelular cu activarea calmodulinkinazei, iar dibutiratul activează proteinkinaza C. Totuşi, în musculatura netedă traheală intactă, condiţiile care promovează contracţia (carbacol), nu induc nici o modificare în fosforilarea lanţului greu (KAMM K. E., 1989 a), deci aceasta

poate fi importantă în proliferarea celulelor, dar nu în reglarea contracţiei musculaturii netede a căilor respiratorii.

2.2.2. Myosin-Light-Chain-Kinase (MLCK)

Activitatea MLCK este esenţială pentru activarea interacţiunii actomiozinice. Reacţia de fosfotransferare este specifică pentru lanţurile uşoare de miozină de 20 kDa (LC_{20}), fosforilarea altor substraturi fiind mult mai lentă (KAMM K. E., 1987).

MLCK provenită din musculatura traheală de bovine, a fost purificată şi studiată în detaliu de Stull şi colab. Silver şi Stull (1984) au găsit că o creştere rapidă şi marcată a fosforilării lanţului uşor LC_{20} nu poate fi un mecanism de fosforilare secvenţial sau negativ cooperativ. Kamm şi Stull au demonstrat că stimularea electrică a muşchiului neted traheal de bovine, determină o contracţie mediată nervos prin activarea aproape sincronă a celulelor musculaturii netede. Latenţa de 500 ms se datorează timpului necesar de la eliberarea acetilcolinei la creşterea concentraţiei Ca^{2+} citoplasmatic şi activarea kinazei (0,04 – 0,8 mol fosfat/mol lanţ uşor). Activitatea ei este dependentă de Ca^{2+}, iar sensibilitatea la calciu este mediată de calmodulină. Concentraţia sa variază între 1 şi 4 μM. MLCK prezintă cel puţin două locuri de fosforilare notate A şi B (STULL J. T., 1993). Locul A este mai important şi corespunde situsului de legare al calmodulinei. Fosforilarea acestuia desensibilizează MLCK la Ca^{2+} şi deci creşte cantitatea de Ca^{2+} necesară activării. Studii *in vitro* arată că trei enzime sunt responsabile de fosforilare la acest nivel: proteinkinaza C, proteinkinaza dependentă de AMPc şi calmodulinkinaza II (CaM-PK II). *In vivo* CaM-PK II are rol major în reglarea fosforilării miozinei. Aceste date sugerează că nici MLCK şi nici concentraţia de calmodulină nu reprezintă factori limitativi ai contracţiei şi că iniţierea contracţiei este realizată de modificările Ca^{2+} intracelular (GERTHOFFER W. T., 1991).

MLCK poate fi fosforilată şi astfel activitatea ei este redusă în musculatura intactă. Deci activitatea MLCK nu este controlată în mod singular de Ca^{2+} intracelular via calmodulină. Mediatorii relaxării căilor aerifere pot modifica starea de fosforilare a MLCK prin reglarea unor fosfoproteinfosfataze.

2.2.3. Actina şi proteinele filamentului subţire

Actina, componentul major al filamentelor subţiri , este o proteină globulară (G-actina) de 42 kDa, existând în diferite izoforme care, în condiţii fiziologice, polimerizează în filamente (F–actina). Distribuţia izoformelor (α şi γ în muşchiul neted şi β şi γ – actina nemusculară) este specifică pentru diferite tipuri de muşchi neted. În plus, cam 30% din actină există ca G-actină monomer, un echilibru dinamic între actina G şi F poate fi important nu numai pentru motilitatea nemusculară, ci şi pentru contracţia muşchiului neted. Au fost descrise, deja,

câteva proteine care participă, probabil, la asamblarea şi remodelarea filamentelor actinice contractile şi citoscheletale (ISHIKAWA R., 1989).

Există, de asemenea, descrise proteine, cum ar fi filamina şi desmina, care menţin structura şi integritatea mecanică a filamentelor de actină. În musculatura netedă sunt mult mai multe filamente subţiri de actină în raport cu filamentele groase de miozină (8/1, 12/1), faţă de muşchiul striat (2/1).

Tropomiozina este o proteină reglatoare a filamentului subţire care există în două forme izomerice. Este compusă din două subunităţi de 33 kDa ce formează o structură secundară în alfa helix în jurul actinei. Legătura acto-miozinică poate fi puternică sau slabă. În prima situaţie tropomiozina creşte activitatea ATP-azică a miozinei indusă prin actină, în a doua, o inhibă. Raportul molar actină/tropomiozină este de şapte monomeri de actină G la o moleculă de tropomiozină. Tropomiozina potenţializează activarea prin actină a Mg-ATP-azei. Studii recente arată că joacă un rol esenţial în activitatea reglatoare a caldesmonei.

Caldesmona şi **calponina** sunt proteine asociate cu filamente subţiri de actină, cu roluri importante în contracţia muşchiului neted (GERTHOFFER W. T., 1991).

Caldesmona, descrisă în 1981 de Kakinki şi col., este o proteină abundentă în muşchiul neted. Caldesmona este o moleculă elongată, localizată numai în domeniul actină-miozină. Atât caldesmona, cât şi calponina sunt prezente în musculatura netedă a căilor respiratorii (POHL J., 1991).

Caldesmona inhibă actomiozin ATP-aza (DE LANEROLLE P., 1991), iar această acţiune poate fi redusă prin fosforilarea caldesmonei de către calmodulinkinaza II. În absenţa Ca^{2+}, caldesmona se leagă de actina (1 CaD pentru 28 monomeri de actină), inhibând interacţiunea actină-miozină (WALSH M. P., 1987). Când Ca^{2+} creşte de la 0,1 la 10 µM, calmodulina se fixează de caldesmonă şi înlătură efectul inhibitor al caldesmonei. Dar, înainte de legarea de calmodulină, caldesmona trebuie să fie fosforilată de o manieră calmodulin dependentă. Caldesmona nu pare să inhibe interacţiunea actină-miozină într-o simplă manieră *„on-off"* (DE LANEROLLE P., 1991). În plus, legarea sa posibilă în acelaşi timp de miozină şi actină, ar putea juca un rol structural în organizarea tridimensională a filamentelor contractile necesară dezvoltării contracţiei. Rolul potenţial al caldesmonei în reglarea mecanismului *„cross-bridge"* constituie astăzi un subiect viu disputat.

Calponina este o altă proteină ce se leagă de actină, tropomiozină şi de calmodulină, fiind similară troponinei T cardiace. Se găseşte exclusiv în muşchiul neted (WINDER S. J., 1993). Este o fosfoproteină care reprezintă substratul de acţiune al calmodulinkinazei II şi al proteinkinazei C. Calponina, o proteină Ca^{2+}/calmodulin dependentă, inhibă activitatea ATP-azei actomiozinice, fără a acţiona asupra fosforilării miozinei. În plus, ea împiedică glisarea filamentelor de actină de-a lungul capetelor miozinei, crescând fixarea actinei de miozină.



Calponina induce, de asemenea, schimbări conformaționale ale moleculei de actină F. Fosforilarea calponinei reduce fixarea sa de actină și înlătură efectul său inhibitor asupra actomiozin ATP-azei *in vitro*. Defosforilarea, printr-o fosfatază de tip 2A, reface acțiunea sa.

2.2.4. Calmodulina

Proteină reglatoare cu greutate moleculară mică, de 17 kDa, este constituită dintr-un lanț de 148 aminoacizi. Calmodulina este prezentă la toate eucariotele, în toate țesuturile (NECHIFOR M., 1985). Face parte din familia de calciproteine care rezultă dintr-o dublă duplicație de gene dintr-un substrat comun de 36 aminoacizi (60% omologie cu troponina C).

Calmodulina este un lanț polipeptidic constituit din patru domenii denumite de la N terminal: I, II, III și IV. Fiecare din aceste domenii conțin 12 aminoacizi formând o buclă și fixează un ion de Ca^{2+}. Absența cisteinei și hidroxiprolinei dă calmodulinei o structură terțiară flexibilă, care are avantaj în interacționarea cu proteinele receptoare.

Această proteină leagă cu foarte mare afinitate 4 moli de Ca^{2+} per mol de calmodulină. Studii recente arată că fiecare din situsurile de legătură au o afinitate diferită și confirmă că ele nu sunt independente. Secvența de fixare se face în ordinea următoare: domeniul III, pe urmă IV, apoi II și, în fine, I. Legarea calciului este diminuată în prezența cationilor monovalenți sau Mg^{2+}.

Când concentrația Ca^{2+} intracelular crește, calmodulina fixează $4Ca^{2+}$, își schimbă conformația și interacționează cu proteinele țintă (LUGNIER C., 1991).

Calmodulina poate fi reprezentată ca un adevărat receptor intracelular al Ca^{2+}. La concentrații între 0,1 și 10 μM ale Ca^{2+}, activează MLCK și interacționează cu caldesmona, permițând, pe de o parte fosforilarea miozinei și, pe de altă parte interacțiunea actină-miozină. Aceste două procese conduc la contracția mușchiului neted.

Calmodulina activează, de asemenea, enzimele implicate în reglarea nucleotidelor ciclice: adenilatciclaza care sintetizează AMPc și fosfodiesteraza dependentă de calmodulina care hidrolizează AMPc. Fosforilarea și desfosforilarea proteinelor celulare joacă un rol esențial în reversibilitatea răspunsului fiziologic.

Aceste procese, în parte dependente de nucleotidele ciclice, sunt egal și sub dependența calmodulinei, prin intermediul calmodulin kinazelor pentru fosforilare.

2.3. Reglarea elementelor contractile ale fibrei musculare netede traheo-bronșice

Mecanismul contractil al celulelor mușchiului neted, constând din interacțiunea filamentelor de actină și miozină, este inhibat când concentrația Ca^{2+} din jurul miofilamentelor este de 0,1 μM. Celula prezintă capacitatea de menținere a

homeostaziei calciului, care se manifestă la mai multe niveluri (AKERMAN K. E. D., 1982). În repaus, canalele fiind închise, acționează ca o barieră, prevenind pătrunderea în celulă a Ca^{2+} extracelular. În timpul potențialului de acțiune, influxul este pasiv, deoarece există un mare gradient de concentrație și un gradient electric care dirijează Ca^{2+} în celulă.

Forța reală este așa-numitul potențial de dirijare, care este diferența între potențialul de echilibru al Ca^{2+} și potențialul real de membrană. Canalele de Ca^{2+} restricționează influxul Ca^{2+} permițând intrarea unei cantități mici de calciu. Această cantitate de Ca^{2+} depinde de potențialul de dirijare al Ca^{2+}, de numărul de canale de Ca^{2+} disponibile și de timpul lor în starea deschisă.

În controlul Ca^{2+} intracelular în fibra musculară sunt implicate două sisteme membranare:

Plasmalema, care este sub controlul potențialului de membrană și al agoniștilor, ca neutrotransmițători, hormoni;

Reticulul sarcoplasmatic, care este sub controlul mesagerilor secundari.

Plasmalema. În reglarea permeabilității plasmalemei pentru Ca^{2+} intervin mai multe mecanisme, în funcție de tipul de transport activ sau pasiv:

a. Influxul de Ca^{2+} prin canalele de Ca^{2+} voltaj dependente.

b. Influxul prin canalele de Ca^{2+} operate de receptori. Uneori, agoniștii ce acționează asupra receptorilor inhibă și pompa de expulzie a Ca^{2+}.

c. Pompele ionice electrogenice:

– activarea pompei de Na^+ – K^+, ce hiperpolarizează membrana;

– schimbul bidirecțional de $3Na^+/Ca^{2+}$;

– pompa de Ca^{2+} legată de o ATP-ază sarcolemală; se adaugă fosforilarea pompei de Ca^{2+} dependentă de AMPc, de proteinkinaza C, având ca efect creșterea eficienței sau capacității sale;

d. O varietate de ionofori poate determina deplasarea selectivă a Ca^{2+} de-a lungul gradientului de concentrație direct prin sarcolemă, nu prin canalele lente (MARTHAN R., 1988) **(fig. 2/1).**

O serie de mecanisme cresc eficiența, respectiv capacitatea mecanismelor efluxului de Ca^{2+} la nivelul plasmalemei când crește Ca^{2+} intracelular, astfel încât concentrația rămâne constantă în mod normal (AKERMAN K. E. D., 1982; BRAUNWALD E., 1982; BREEMEN C., 1989).

2.3.1. Influxul de Ca^{2+} prin canalele de Ca^{2+} ale membranei celulare

Canalele de Ca^{2+} sunt grupate în canale de calciu reglate de potențialul transmembranar și canale de calciu controlate prin ocuparea unui receptor asociat canalului de către un agonist (DOYLE A. C., 1988; BREEMEN C., 1989; BRUCE P. B., 1989; COBURN R. F., 1990; PETROIU A., 1991).

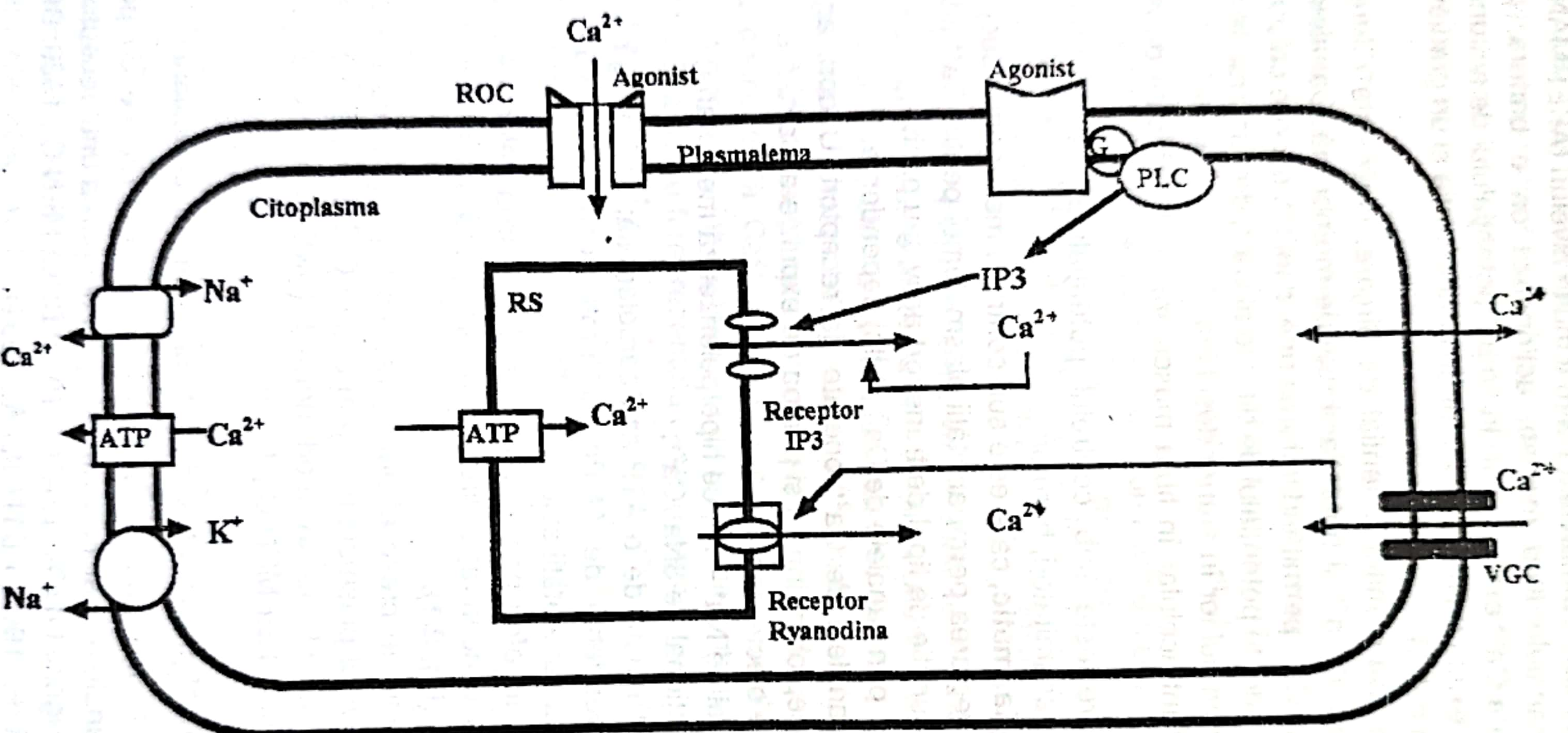


Fig. 2/1 – Mecanisme de control ale concentrației Ca^{2+} intracelular

I. Canalele de calciu voltaj dependente *(voltage gated Ca^{2+} – channels –* VGC). Există o mare varietate funcțională a acestora. Ele sunt diferențiate pe baza unor criterii electrofiziologice și farmacologice (TSIEN R. W., 1991): pragul de activare, durata activării și inactivării, conductanța pentru Ba^{2+} comparativ cu cea pentru Ca^{2+}, sensibilitatea pentru antagoniștii organici sau anorganici, sensibilitatea la unele toxine naturale.

S-au descris două principale categorii de canale de calciu voltaj dependente, în funcție de pragul lor de activare. Acestea sunt:

1. Canale activate de voltaj scăzut (aproximativ – 70 m V) – canale LVA *(low voltage activated)* sau canale de tip T *(transient)*, denumite și canale rapide *(„fast Ca^{2+} channels")*. Deși sunt cunoscute mici diferențe, aceste canale par a avea caracteristici foarte similare: se activează la o depolarizare slabă, se inactivează rapid, de o manieră dependentă de voltaj, au o conductanță elementară mică (5–10 pS) și o permeabilitate egală pentru Ca^{2+} și Ba^{2+}. Nu a fost descris până în prezent pentru tipul T ligandul cu adevărat specific. Sunt relativ insensibile la dihidropiridine, insensibile la cadmiu, sensibile la conotoxin.

2. Canale calcice de tip prag înalt sau HVA *(high voltage activated)* – sunt activate de depolarizări mai ridicate (> -30 mV) și dau naștere la curenți care se inactivează puțin sau foarte lent.

S-a demonstrat existența de mai multe tipuri de HVA, dar la celulele musculare este prezent doar tipul L.

Tipul L *(long lasting)* – care are o inactivare foarte lentă, prag de activare înalt (-20 mV), o conductanță elementară mai mare (20–25 pS) și o permeabilitate pentru ionii de Ba^{2+} în general mai crescută decât pentru ionii de Ca^{2+}. Caracteristica esențială a tipului L este sensibilitatea sa la antagoniștii calcici și, în particular, la clasa de dihidropiridine, ca nifedipină și nitrendipină, blocate, de asemenea, de cadmiu. În schimb sunt insensibile la conotoxin. Și verapamilul blochează canalele L, mai eficient decât canalele T.

Tipul L joacă un rol major în cuplarea excitație-contracție (și excitație-secreție).

Există o mai mare variabilitate între tipurile de canale L la diferite tipuri celulare față de canalele T, dar marea sensibilitate la dihidropiridine poate fi luată drept criteriu caracteristic al unui canal L (DUPUIS B. A., 1987; RAEBURN B., 1987; BEAN B. P., 1989).

Multe canale voltaj-dependente pot fi reglate indirect prin fosforilări ce implică diverse proteinkinaze (TIAHO F., 1991) și prin proteine de cuplaj sau proteine G, sub acțiunea unor neurotransmițători sau hormoni (BOCKAERT J., 1989; KUO C. C., 1993).

Marea diversitate funcțională a canalelor calcice voltaj-dependente rezidă și din diversitatea în structura lor.

În general, valabil pentru toate tipurile de canale de calciu identificate pe baze funcționale, structural acestea sunt constituite din cinci subunități: α_1, α_2, δ și γ situate transmembranar și subunitatea β-citoplasmatică.

Subunitatea α_1 – este responsabilă de forma canalului și de situsurile receptoare pentru marile familii de antagoniști calcici (dihidropiridine, fenilalkilamine, benzotiazepine) (FOSSET M., 1983).

Este formată din patru domenii transmembranare organizate în șase α-helix, numite S_1 la S_6, al 4-lea segment al fiecărui domeniu este încărcat pozitiv (S_4) și constituie detectorul de voltaj *(voltage sensor)*. În plus, bucla peptidică ce leagă segmentele transmembranare 5 și 6 (S_5–S_6) în fiecare domeniu este formată din două componente β intramembranare denumite SS_1–SS_2, implicate în formarea de pori și selectivitatea canalului.

Structura responsabilă de cuplajul excitație-contracție este bucla intracelulară care leagă domeniile II și III (TANABE T., 1990), iar domeniul I (segmentul S_3) este responsabil de cinetica rapidă sau lentă a activării curentului calcic (NAKAI J., 1993).

Situsurile de fixare a dihidropiridinelor (DHP) se situează spre partea extracelulară, la nivelul segmentelor SS_1–SS_2 și S_4 a domeniului IV (TANG S., 1993).

Pentru verapamil, situsul de fixare este localizat spre fața intracelulară, la nivelul părții carboxilice ce continuă segmentul S_6 (CATTERALL W. A., 1993).

În fixarea diltiazemului intervin acizi aminați aparținând segmentului SS_1 al domeniului IV.

Au fost stabiliți, de asemenea, acizii aminați implicați în permeabilitatea și selectivitatea pentru ionii de Ca^{2+}, comparând canalele sodice și calcice a căror structură este global similară, dar selectivitatea ionică cu totul diferită; singurele variații de structură se găsesc în domeniile III și IV la nivelul SS_1–SS_2, unde acizii aminați încărcați negativ (Glu) la canalele calcice sunt înlocuiți cu acizi aminați încărcați pozitiv (Lys și Arg) la canalele sodice.

Secvența peptidului subunității α_1 care permite interacțiunea cu subunitatea β va fi localizată la nivelul buclei intracelulare legând domeniile I și II (PRAGNELL M., 1994).

La diversitatea canalelor calcice contribuie, în plus, subunitățile auxiliare, ce intervin în modularea subunității α_1.

Subunitatea α_2–δ asociată unei subunități α_1 crește probabil intensitatea curentului calcic și poate stabiliza subunitatea α_1 în membrană (NARGEOT J., 1992).

Un rol particular îl joacă subunitățile β, cu mai multe izoforme considerate ca veritabili modulatori endogeni, care participă la aparenta diversitate a canalelor calcice (NARGEOT J., 1994).

II. Canalele de calciu operate de receptori (ROC) *(receptor operated channels).*

Un agonist extracelular poate activa intrarea Ca^{2+} în celulele musculare netede și cardiace pe diferite căi (BREMEN C., 1989).

Activarea receptorilor deschide direct ROC. Aceste canale cationice au o conductanță scăzută (5–6 pS), sunt mai puțin selective, capabile să conducă un curent spre interior de Na^{+} și Ca^{2+}, sunt voltaj insensibile, mult mai puțin sensibile la antagoniștii canalelor de Ca^{2+}. În acest tip de ROC, agonistul induce o schimbare conformațională în molecula receptoare implantată în membrană pentru a expune un pol hidrofilic conducător de ioni (așa cum s-a descris pentru receptorul nicotinic al acetilcolinei). Alți agoniști, ca histamina, noradrenalina (la mușchiul neted vascular), vasopresina și angiotensina, deschid indirect ROC, prin acțiunea intermediară a unui mesager secundar.

Mesagerii intermediari responsabili pentru acest proces pot fi: subunitățile alfa ale proteinelor ce leagă GTP (proteinele G), inozitol 1,4,5-trifosfat (IP_3), inozitol 1,3,4,5-tetrafosfat (IP_4) (BREMEN C., 1989; COBURN R. F., 1990; HOFMANN F., 1986; RASMUSSEN H., 1986 a și b).

Mesagerii secundari pot, de asemenea, facilita deschiderea VGC, ca IP_3 și DAG. Aceștia rezultă în urma interacțiunii agonist-receptor. Această interacțiune duce la creșterea ratei influxului de Ca^{2+} și la activarea unei fosfolipaze C specifice care hidrolizează fosfatidil-inozitil 4,5-difosfat (IP_2) membranar, rezultând fosfatidil-inozitol 1,4,5,-trifosfat (IP_3) și diacilglicerol (DAG), fiecare având funcția de mesageri secunzi. IP_3 induce eliberarea Ca^{2+} din reticulul sarcoplasmatic (RS), iar DAG activează proteinkinaza C, responsabilă de faza susținută a răspunsului celular.

Un ultim mecanism important de activare de către agonist a VGC constă în depolarizarea ce rezultă prin deschiderea ROC. Gradul de depolarizare indus depinde de densitatea ROC și de numărul canalelor K^{+} (Ca^{2+}) activate (BREEMEN C., 1989; LATORE R., 1989).

Raportul canale ROC/canale VGC, în favoarea celor ROC, explică parțial relativa insensibilitate a mușchiului neted traheo-bronșic la blocantele canalelor de calciu.

2.3.2. Eliberarea Ca^{2+} din surse celulare

1. Mitocondriile intervin în stocarea Ca^{2+} doar când concentrația Ca^{2+} intracelular crește mult, în timpul eliberării Ca^{2+} din RS sau când influxul de Ca^{2+} este anormal de mare, printr-o pompă de Ca^{2+} care-l transportă din citosol în matricea mitocondriilor.

Mitocondriile sunt implicate, deci, în homeostazia Ca^{2+} numai în condiţii de supraîncărcare cu Ca^{2+}. În ciclul normal contracţie-relaxare, mitocondriile nu au nici o funcţie reglatoare (SOMLYO A. P., 1985).

2. Reticulul sarcoplasmatic (RS) reprezintă sursa majoră intracelulară pentru activarea fibrei musculare (AKERMAN K. E. D., 1982, BREEMEN C., 1989; RASMUSSEN H., 1986 a). RS constă dintr-o reţea continuă de tuburi mărginite de membrane din care la celula musculară netedă, o fracţiune considerabilă este localizată periferic. Membrana celulelor excitabile nu poate comunica direct cu RS profund. Proporţia de RS în muşchiul neted variază între 2 şi 7% din volumul celular (POPESCU L. M., 1975; SOMLYO A. P., 1985).

Mobilizarea Ca^{2+} sechestrat se realizează prin deschiderea a două familii de canale calcice:

– familia receptorilor de inozitol 1,4,5 – trifosfat (IP_3) şi

– familia receptorilor de ryanodină (vezi **fig. 2/1**).

a) Receptorul de IP_3. Numeroşi receptori pentru hormoni sau neurotransmiţători sunt cuplaţi cu fosfolipaza C prin intermediul unei proteine G (CALLEWAERT G., 1992; SORRENTINO V., 1993; FASOLATO C., 1994; NARGEOT J., 1994; BOCKAERT J., 1995). În prezenţa agoniştilor, fosfolipaza C duce la formarea de IP_3. Acesta difuzează spre receptorii săi de la nivelul RS.

Receptorul de IP_3 este un tetramer care posedă o activitate de canal (CALLEWAERT G., 1992; BERIDGE M. J., 1993; MAUGER J. P., 1994; MIKOSHIBA K., 1993; SORRENTINO V., 1993; EHRLICH B. E., 1994). IP_3 se fixează de o manieră echivalentă pe cele patru subunităţi ale receptorului. Viteza de disociere a IP_3 de pe aceste situsuri este influenţată de cationi mono-, bivalenţi şi de ATP.

În prezenţa agonistului se deschide canalul calcic de IP_3, cu mobilizarea Ca^{2+} sechestrat la acest nivel, provocând fluctuaţii ale $[Ca^{2+}]$.

Aspectul pulsatil, tranzitoriu, de modulare a $[Ca^{2+}]$ este determinat în mare parte de retrocontrolul activităţii receptorului de IP_3, în care calciul deţine un loc important (CLARET M., 1994).

În celulele musculare netede prezenţa calciului în citoplasmă ar putea condiţiona mobilizarea calciului prin receptorul de IP_3 al RS:

– la valorile $[Ca^{2+}]$ apropiate de concentraţia de repaus, Ca^{2+} este coactivator al receptorilor de IP_3, amplificând deschiderea acestor canale;

– la concentraţii mari, Ca^{2+} devine un puternic inhibitor al canalelor de IP_3, ce limitează eliberarea sa (BEZPROZVANNY I., 1993).

În paralel, calciul sechestrat în RS mobilizează, de asemenea, propria sa eliberare sub influenţa IP_3:

– niveluri intermediare de Ca^{2+} intraluminal, apropiate de 30% din capacitatea totală de sechestrare provoacă o potențializare forte a efectului IP_3;

– la concentrații mari, apropiate de 100%, receptorul de IP_3 pierde esențial sensibilitatea la $[Ca^{2+}]$.

b) Receptorii de ryanodină – sunt din abundență studiați în celulele musculare (MIKOSHIBA K., 1993; SORRENTINO V., 1993; ERLICH B. E., 1994). Funcționalitatea lor este frecvent asociată cu cea a canalelor calcice membranare dependente de potențial (VGC).

Deschiderea VGC de tip L determină o creștere a $[Ca^{2+}]$ prin deschiderea canalelor receptoare de ryanodină ale RS (MISSIAEN L., 1992; MARTY I., 1994).

Existența celor două familii de canale calcice ale RS permite o complementaritate a modului de transducție între membrana plasmatică și compartimentele calcice intracelulare.

La terminarea semnalului calcic, o parte din ionii de calciu reintră în RS datorită pompei calcice, iar o altă parte trec spre exteriorul celulei prin intervenția pompelor și schimbătorilor calcici ai membranei plasmatice.

2.4. Mecanismele de cuplare în fibra musculară netedă a căilor respiratorii

Mecanismele de cuplare implicate în generarea de forță contractilă, menținerea acesteia și relaxarea mușchiului neted sunt complexe.

Clasic, se disting două mecanisme de cuplare a excitației cu contracția:

– **Cuplarea electro-mecanică** – dependentă de modificările potențialului de la suprafața membranei, ce sunt urmate de contracția mecanică;

– **Cuplarea farmaco- sau chimio-mecanică** – datorată acțiunii unor mesageri extracelulari care pot antrena o contracție independent de variația de potențial membranar (COBURN R. F., 1990).

Această clasificare, făcută de Somlio în 1968, a revenit în actualitate după ce s-a dovedit că activarea proteinelor G în procesul de transducție membranară este comună ambelor tipuri de cuplare.

Cuplarea electro-mecanică

Mecanismele de la suprafața membranară din timpul cuplării electro-mecanice includ activarea unor canale cu efect de depolarizare prin intermediul proteinelor G. Canalele ionice care permit generarea de curenți ionici transmembranari în fibra musculară netedă traheo-bronșică sunt de două tipuri: canale ionice de calciu și de potasiu.



Canalele ionice de calciu voltaj-dependente de la nivelul sarcolemei musculaturii netede bronșice se deschid la valori ale potențialului cuprinse între –30 mV până la –20 mV și amplitudinea curentului calcic antrenat este maximă când potențialul de membrană atinge valori de +10 – +20 mV.

Canalele ionice de potasiu voltaj-dependente de tip K_{DR} (pentru *„delayed rectifier")* contribuie la stabilizarea potențialului de membrană și limitează depolarizarea prin generarea unui eflux de ioni de K^+ (MARTHAN R., 1994).

Canalele ionice de potasiu dependente de calciu, maxi-K sau K_{Ca} se deschid în condițiile creșterii concentrației de calciu citosolic și au o conductanță mare, de ordinul a 266 pS. La nivelul musculaturii căilor respiratorii, acest tip de canale de K sunt deschise de β-agoniști.

Caribdotoxin, un blocant al maxi-canalelor de K, inhibă efectul bronhodilatator al β-agoniștilor și al altor agenți care cresc AMPc, un efect similar având și Iberiotoxina, un blocant de mare selectivitate al maxi-canalelor de K.

Răspunsul a fost obținut *in vitro* la doze mici de β-agoniști pe mușchiul neted traheo-bronșic și pare a fi unul din mecanismele principale de acțiune a β-agoniștilor în controlul bronhomotricității. Prin studii de *„patch clamp"* s-a confirmat că deschiderea canalelor K_{Ca} se realizează în condițiile creșterii AMPc. Studii recente relevă faptul că deschiderea acestor canale poate fi indusă de β-agoniști și independent de nivelul AMPc, prin subunitatea α_s a proteinei G_s cuplată cu receptorul β_2-adrenergic. Datele sugerează că receptorii β_2-adrenergici sunt cuplați direct cu maxi-canalele de K din fibrele musculare netede traheo-bronșice.

Canalele ionice de potasiu dependente de ATP, K_{ATP} se deschid în condițiile scăderii concentrației de ATP citoplasmatic (BLACK J. L., 1990).

Funcționarea în ansamblu a acestor canale potasice explică faptul că, în condiții fiziologice, membrana fibrelor musculare netede bronșice se depolarizează puțin și, în consecință, nu prezintă potențial de acțiune spontan sau provocat. Astfel, intrarea calciului prin canalele calcice voltaj-dependente (care se deschid numai în condițiile unei depolarizări marcate) este limitată.

Cuplarea farmaco-(chimio-) mecanică

Acest mecanism joacă un rol major în contracția musculaturii netede bronșice. În secvența etapelor care leagă interacțiunea mesagerului extracelular de creșterea concentrației citosolice de calciu liber, un rol deosebit este jucat de proteinele G.

2.4.1. Interacțiunea receptor-proteine G

Toate proteinele G au activitate guanozin-trifosfatazică și catalizează conversia guanozin-trifosfatului (GTP) la guanozin-difosfat (GDP).

În stare de repaus, proteina G este un trimer alfa-beta-gama, cu GDP ocupând locul de legare de pe subunitatea alfa. Când un receptor este ocupat de un agonist, au loc schimbări conformaţionale, cu eliberarea GDP şi fixarea GTP de subunitatea α, care se disociază de subunităţile β şi γ. Alfa guanozin-trifosfatul este forma activă a proteinei G şi dufuzează spre moleculele efector asociate ca enzime sau canale ionice. Acest proces se termină prin hidroliza GTP la GDP prin GPT-aza subunităţii α. Alfa GDP rezultat, disociat de pe molecula efector se reasociază cu subunităţile β şi γ pentru a putea fi activat din nou (BARNES P. J., 1994).

Se cunosc diferite forme de subunităţi α, β şi γ, rezultând o mare heterogenitate a proteinelor G, implicate în mecanismele de traducere a semnalului. Proteinele Gs şi Gi stimulează şi, respectiv, inhibă adenilat ciclaza cu modularea concentraţiei AMPc. Descoperirea, conform căreia Gs poate activa şi canalele de Ca^{2+} membranare, a arătat că proteina G poate controla mai mulţi efectori. β-receptorii şi receptorii pentru VIP stimulează prin Gs adenilat-ciclaza, pe când activarea altor receptori cum ar fi α_2-adrenergici sau M_2 muscarinici inhibă adenilat-ciclaza prin Gi. Alte proteine G cum ar fi Gq, Go, Gpic, cuplează receptorii cu activarea fosfolipazei C sau Gk care este cuplată cu canalul de K^+ (BARNES P. J., 1995).

2.4.2. Mecanisme de cuplare prin sistemul traductor inozitolfosfat

Legarea unui agonist mobilizator al Ca^{2+} la receptorii membranei plasmatice, activează o G proteină care leagă şi hidrolizează GTP, Gq, care are o structură diferită de a proteinelor Gs şi Gi. Acest fapt duce la activarea unei fosfodiesteraze, fosfolipaza C. Ca urmare, în spaţiul învecinat membranei plasmatice apare o creştere rapidă a concentraţiei de Inozitol (1,4,5) P_3 (IP_3), Inozitol (1,4)P_2 şi Inozitol 1P şi a izomerilor ciclici corespunzători, maximul fiind atins în câteva secunde. Simultan creşte şi concentraţia membranară a diacilglicerolului (DAG), al doilea fragment din reacţia de desfacere a Fosfatidil-Inozidol (4,5) P_2 (PIP_2). DAG poate funcţiona ca mesager secundar puternic.

Analiza directă a inozitolfosfaţilor a dus la ipoteza că pasul limitator de viteză este hidroliza PIP_2, producând IP_3 şi DAG (BERRIDGE M. J., 1989). IP_3 eliberat, se leagă de receptorii membranei reticulului sarcoplasmatic cu afinitate mare (1S). Ca urmare a deschiderii unor canale de calciu sensibile la IP_3, Ca^{2+} din aceste rezervoare este liberat în citoplasmă. Creşterea Ca^{2+} intracelular activează mai multe proteinkinaze calciu şi calmodulin dependente, sau proteinkinaze activate de calciu şi fosfolipide la nivelul membranei celulare ca proteinkinaza C. Aceasta este activată de ambii produşi ai reacţiei de desfacere, adică de Ca^{2+} eliberat de IP_3 şi de DAG. Proteinkinaza C activă fosforilează şi alte proteine şi influenţează astfel numeroase funcţii. Există evidenţa fosforilării mediate de C-kinaza a lanţului uşor de miozină (MLC), dar într-un loc distinct de cel catalizat de MLCK.

Proteinkinaza C este şi receptorul celular pentru forbolesteri. Efectele celulare ale acestora nu sunt identice cu cele ale hormonilor care duc la sinteza DAG, deoarece forbolesterii stimulează doar proteinkinaza C (HOFMANN F., 1986).

Ca şi alţi mesageri de ordinul II, IP_3 şi DAG trebuie eliminaţi rapid şi eficient din compartimentul lor de acţiune. Există două căi de inactivare a IP_3. În primul rând, este defosforilat în mai multe trepte prin acţiunea fosfatazelor specifice. Pentru a elimina potenţialul eliberator de Ca^{2+} a IP_3, prima reacţie de defosforilare este importantă, desfacerea fosfatului din poziţia 5, de către 5- fosfataza Mg^{2+} dependentă. (vezi **fig. 2/2**)

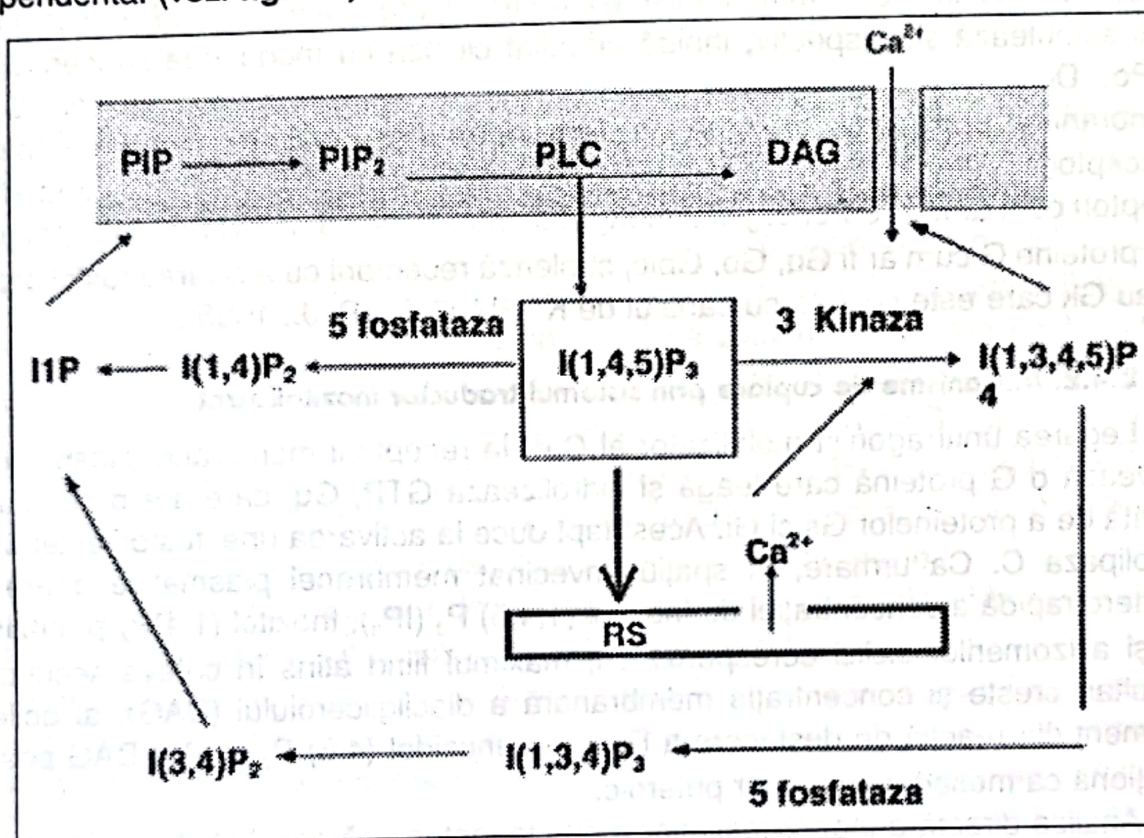


Fig. 2.2 – Ciclul inozitolfosfaţilor

Ciclul inozitolfosfaţilor

Ins (1,4,5) P_3-3-kinaza, prezintă activitate optimă la concentraţii micromolare de Ca^{2+}, inducând Ins (1,3,4,5)P_4, care nu este numai un produs de inactivare al IP_3, ci este capabil să deschidă canalele de calciu din membrana plasmatică, putând fi el însuşi un mesager.

Eliberarea de Ca^{2+} IP_3 dependentă din reticolul sarcoplasmatic şi activarea de către Ca^{2+} a Ins(1,4,5)P_3-3-kinazei ar fi numai primele etape ale unei secvenţe de reacţii a cărei finalitate este o creştere fiziologică maximă în concentraţia Ca^{2+}

intracelular. Şi Ins(1,3,4)P_3, produsul de defosforilare al Ins(1,3,4,5)P_4 este capabil să elibereze calciu, chiar dacă nu cu aceeaşi capacitate. Dintre inozitoldifosfaţi, doar un izomer Ins(4,5)P_2 are un slab potenţial mobilizator de Ca^{2+}. Remarcabile sunt descoperirile că PIP_2 însuşi este capabil să elibereze calciu din microzomi şi că IP_3 pare, de asemenea, să deschidă canale de calciu ale membranei plasmatice, arătând că aceşti produşi joacă roluri şi mai importante în controlul fluxurilor celulare de calciu.

Următoarele etape de defosforilare a produşilor Ins(1,4)P_2 şi Ins(1,3,4)P_3 care se produc după 5-defosforilare sunt mediate de enzime citoplasmatice, părând a exista două căi: una care este şi alta care nu poate fi inhibată de litiu. Fosfoinozitidele din membrana citoplasmatică prezintă cea mai înaltă rată de transformare dintre toate fosfolipidele din membrană, aceasta reflectând semnificaţia lor funcţională în mecanismul transducţiei semnalului. Mai mult, o parte din conţinutul de Ptd-Ins este prezent în membranele intracelulare ale reticulului sarcoplasmatic şi aparatului Golgi, deoarece resinteza Ptd-Ins se realizează în aceste două sisteme membranare.

Partea metabolismului fosfoinozitidic care este esenţială pentru transducţia semnalului constituie o cale metabolică deschisă. Ca rezultat al activităţii considerabile a acestei căi metabolice şi a disponibilităţii limitate atât de resturi lipidice, cât şi de inozitol din fosfoinozitide, această cale pare a fi închisă într-un ciclu de reacţii (vezi **fig. 2/2**).

Investigaţiile detaliate, asupra rolurilor specifice şi a mecanismelor de reglare a acestui sistem în celule, ar putea duce la o nouă dimensiune în terapia unor boli, ce ar depăşi cu mult prezentele principii terapeutice, ca selectivitate şi eficacitate terapeutică.

2.5. Bazele biochimice ale contracţiei muşchiului neted al căilor respiratorii

În ultimii ani s-au făcut progrese însemnate în înţelegerea mecanismelor biochimice ce stau la baza contracţiei muşchiului neted din căile aerifere.

Semnalul de transducţie în muşchiul neted include:

a) un mecanism pentru conversia energiei chimice (ATP) în activitate mecanică;

b) un mecanism pentru integrarea la stimuli multipli.

Hidroliza ATP realizată în timpul interacţiunii ciclice a actinei cu miozina este locul final pentru ambele mecanisme (DE LANEROLLE P., 1991).

Agoniştii contractili, interacţionând via receptor – proteină Gq – activează fosfolipaza C, generând IP_3 şi DAG din PIP_2, IP_3, prin legarea la proteinele canale de Ca^{2+} din membrana RS şi crescând starea probabil deschisă a canalului, induc

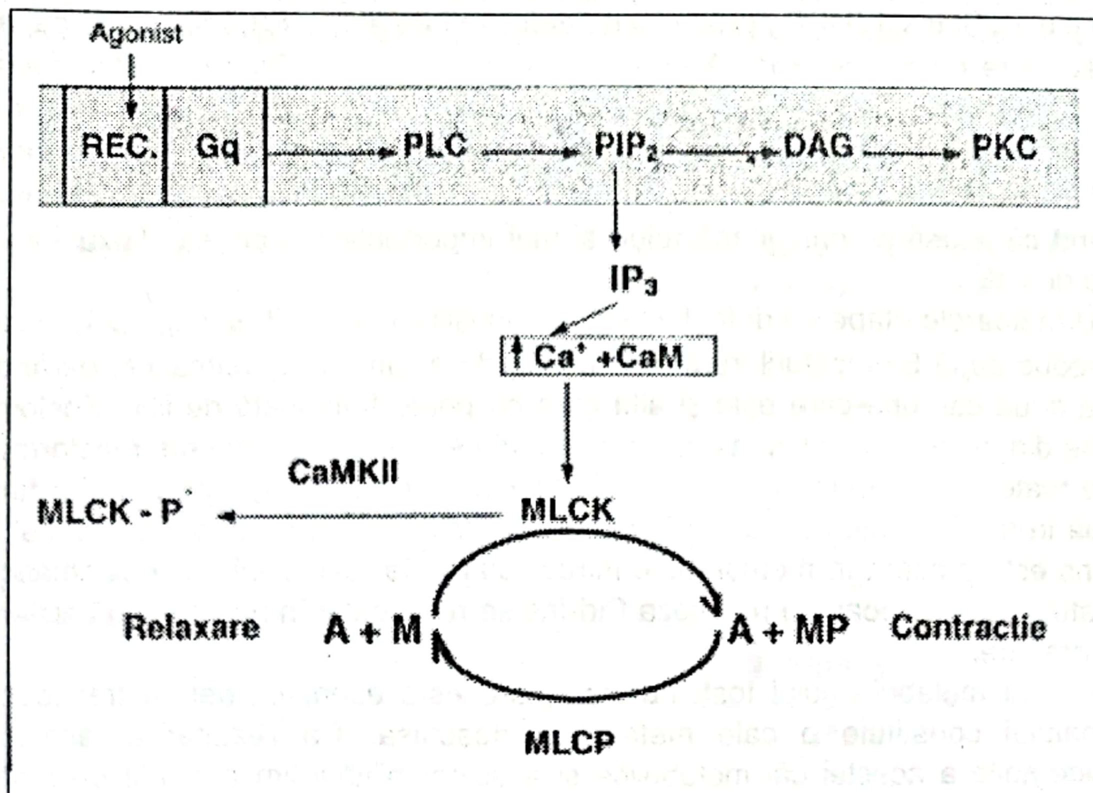


Fig. 2.3 – Model al efectelor celulare induse de agoniştii mobilizatori ai Ca^{2+} în fibra musculară netedă a căilor respiratorii

prompt eliberarea calciului din rezervele intracelulare. Acest Ca^{2+} liber activator se combină cu calmodulina (vezi **fig. 2/3).**

Complexul Ca^{2+} calmodulin, activează *miozin light chain kinase* (MLCK), care la rându-i va fosforila lanţurile uşoare ale miozinei de 20 kDa. Acest eveniment este recunoscut a fi necesar atât pentru inducţia activităţii miozin ATP-azei, cât şi pentru întrepătrunderea actinei cu miozină (KAMM K. E., 1985). Rata la care este generată tensiunea, componenta fazică a contracţiei, este determinată de rata la care se ciclează punţile între actină şi miozină.

Generarea IP_3 de un agonist contractil este tranzitorie. Astfel apare că IP_3 este adaptat numai pentru a declanşa creşterea Ca^{2+} intracelular pentru a iniţia procesul contractil. În absenţa oricărei eliberări ulterioare de Ca^{2+} intracelular, concentraţia acestuia scade (dar nu necesar) către valorile bazale. Această scădere încheie activarea MLCK.

Deci, fosforilarea miozinei trebuie, de asemenea, să scadă ca şi activitatea ATP-azică a miozinei. În faţa acestor evenimente aparent inactivatoare, contracţia muşchiului neted din căile respiratorii este bine menţinută (vezi **fig. 2/4).**

S-a propus că menţinerea unei astfel de forţe staţionare este o consecinţă a unui tip modificat de ataşare între actină şi mioniză. Astfel, în loc de punţi rapid

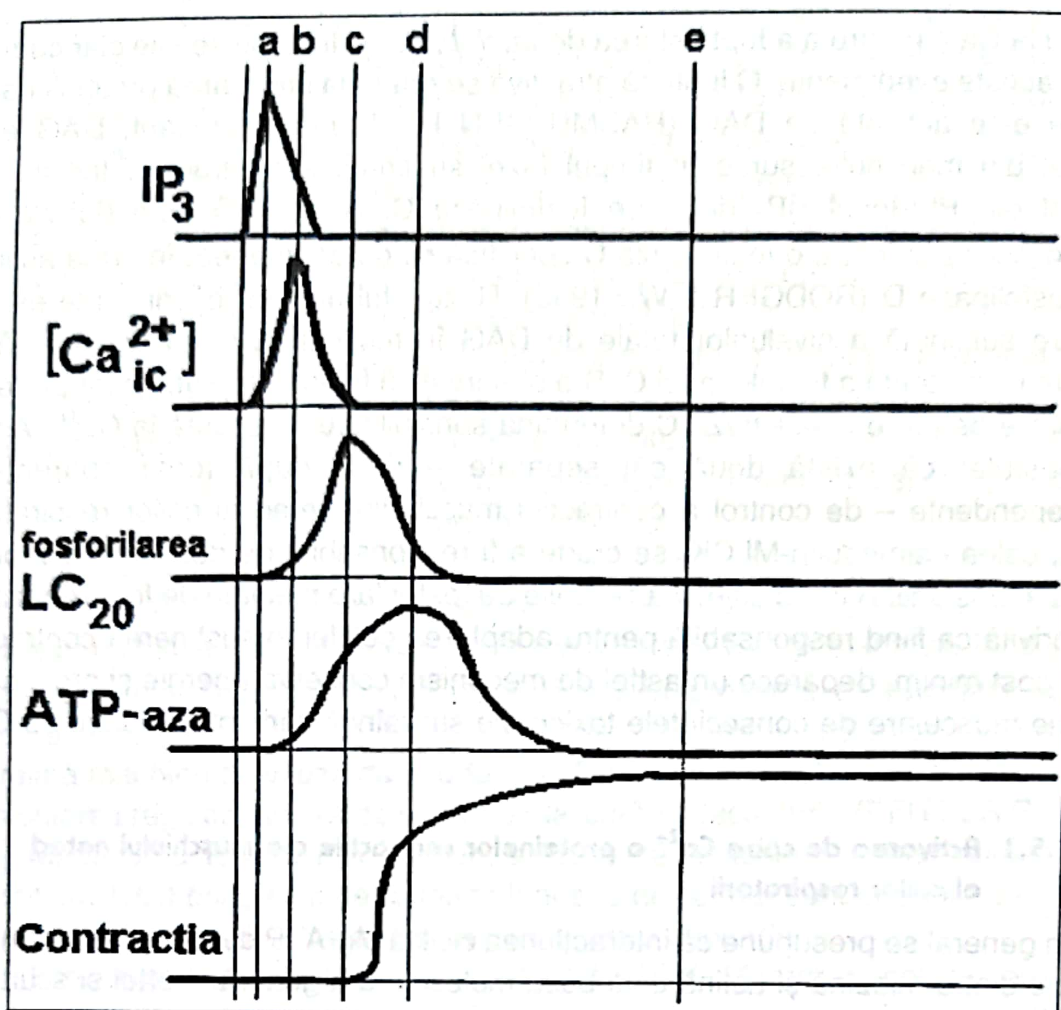


Fig. 2.4 – Reprezentare schematică a unor evenimente biochimice implicate în generarea contracției mușchiului neted al căilor respiratorii (după Rodger, I. W.); a – nivelul maxim al IP_3, ce revine rapid la valoarea inițială; urmărind acest eveniment, Ca^{2+} are o creștere rapidă ajungând la un maxim (b); LC_{20} este fosforilat cu maximul în c și imediat după aceea miozin ATP-aza este activată, cu maxim de activitate în d. Fosforilarea LC_{20} și activitatea miozin -ATP-azei se reduc, deși contracția tónică (e) este menținută.

ciclabile, se formează așa-numitele *latch bridges* – punți de miozină defosforilată – care se ciclează lent sau deloc (RASMUSSEN H., 1990; HAY C. M., 1989). Aceste legături între actină și miozină sunt Ca^{2+} dependente, deoarece mușchiul neted al căilor aerifere în starea „zăvorâtă“ *(latch stade)* poate fi relaxat prin îndepărtarea Ca^{2+}. Se presupune că aceste punți *latch bridges* nu sunt reglate direct de Ca^{2+}. Totuși un mecanism Ca^{2+} dependent operează utilizând probabil Ca^{2+} extracelular, ce intră în celulă prin canale operate de receptori.

Dată fiind concentrația intracelulară a Ca^{2+} scăzută, existentă în timpul fazei tonice a contracției, rezultă că proteinele contractile ar trebui expuse unui proces

sensibil la Ca^{2+} pentru a adopta starea de *latch bridges.* Încă nu se știe clar cum se petrec aceste evenimente. O ipoteză atractivă se referă la implicarea proteinkinazei C care este activată de DAG (RASMUSSEN H., 1990). Interesant, DAG este generat din mai multe surse în timpul fazei susținute a contracției. Inițial este generat din Ptd-Ins(4,5)P_2 de către fosfolipaza C. Apoi DAG este derivat din fosfatidilcolină de către o fosfolipază C specifică și, de asemenea, în urma acțiunii unei fosfolipaze D (RODGER I. W., 1992). Rezultatul acestor evenimente este o creștere susținută a nivelurilor totale de DAG în mușchi și, drept consecință, o activare persistentă a fosfokinazei C. S-a observat că fosforilarea anumitor proteine contractile de către fosfokinaza C determină sensibilitatea crescută la Ca^{2+}. Astfel s-a postulat că există două căi separate – deși, după toate aparențele, interdependente – de control a contracției mușchiului neted al căilor respiratorii. Prima, calea calmodulin-MLCK, se crede a fi responsabilă de dezvoltarea rapidă, inițială a tensiunii. A doua cale, via-reacțiile de fosforilare mediate de fosfokinaza C, este privită ca fiind responsabilă pentru adaptarea celulei în susținerea contracției cu un cost minim, deoarece un astfel de mecanism conservă energie și protejează celulele musculare de consecințele toxice ale supraîncărcării intracelulare cu Ca^{2+} (RODGER I. W., 1992).

2.5.1. Activarea de către Ca^{2+} a proteinelor contractile ale mușchiului neted al căilor respiratorii

În general se presupune că interacțiunea ciclică Mg-ATP dependentă a punților laterale dintre miozină și actină este baza moleculară a generării forței și scurtării. În timp ce numărul de punți laterale ce interacționează cu actina determină forța, frecvența lor de ciclare determină viteza cu care mușchiul se poate scurta. Mușchiul neted se remarcă prin aceea că atât numărul, cât și frecvența punților laterale, pot fi reglate independent.

Activarea prin Ca^{2+} este mediată:

I. fosforilarea Ca^{2+} – calmodulin dependentă a lanțurilor ușoare a miozinei de 20 kDa (LC_{20}).

II. un mecanism al filamentului subțire Ca^{2+} dependent, implicând caldesmona, calponina, acționând împreună cu tropomiozina.

2.5.2. Teoria activării prin fosforilarea mușchiului neted

Fosforilarea reversibilă și defosforilarea LC_{20}, catalizată de MLCK Ca^{2+} /calmodulin dependentă și de fosfataze specifice, se crede a fi, în general, mecanismul reglator primar al activării mușchiului neted (GERTHOFFER W. T., 1991; DE LANEROLLE P., 1991; SOMLYO A. P., 1994).

Stimularea mușchiului neted produce o creștere a Ca^{2+} intracelular, care apoi se leagă de calmodulină. Când 4 moli de Ca^{2+} se leagă de 1 mol de calmodulină, ea poate activa MLCK, rezultând fosforilarea serinei 19 la capătul amino al LC_{20} și activarea Mg-ATP-azei miozinice de către actină. În anumite condiții LC_{20} poate fi fosforilat și într-un al doilea loc, treonina 18, de către MLCK.

Defosforilarea LC_{20} de către o fosfatază specifică duce la inhibarea Mg-ATP-azei, actin-activate a miozinei. Se presupune că miozin fosfataza (MLCP) este la fel de efectivă în prezența sau absența Ca^{2+}.

Într-un număr de preparate de mușchi neted din diferite surse, intacte sau dezepitelizate, s-a demonstrat că fosforilarea miozinei precede creșterea forței. Totuși, deși defosforilarea miozinei reduce activitatea Mg-ATP-azei actomiozinice și poate fi corelată cu relaxarea preparatelor intacte sau denudate și alte procese pot fi implicate în reglarea relaxării mușchiului neted.

Alți autori au prezentat că tensiunea se poate dezvolta ușor în țesuturi stimulate cu forbolesteri, ori cu 3,4-diaminopiridină, antagonist al canalelor de K^+ fără sau numai cu o ușoară creștere în fosforilarea LC_{20}. Și mai mult, forța poate fi menținută într-o manieră calciu dependentă în prezența defosforilării lanțurilor ușoare aproape de niveluri bazale. În unele preparate, fosforilarea pare să fie corelată mai bine cu viteza de scurtare fără încărcare, decât cu forța, sugerând că fosforilarea reglează viteza de scurtare mai curând decât forța (PFITZER G., 1992).

Menținerea tensiunii la niveluri scăzute de fosforilare a fost atribuită așa-numitelor *latch bridges,* care ciclează lent sau deloc, dar sunt capabile să mențină forța, via unui al doilea mecanism reglator calciu dependent.

Într-o modificare a ipotezei lor inițiale LATCH, Murphy și col. au propus un model în care fosforilarea și defosforilarea miozinei poate explica dezvoltarea și menținerea tensiunii la niveluri joase ale fosforilării (vezi **fig. 2/5**): ● punțile laterale se pot atașa numai în starea fosforilată ● dacă punțile laterale sunt defosforilate înainte de detașarea de actină, atunci ele sunt transformate în *latch bridges* care, în contrast cu *cross bridges* fosforilate au o scăzută rată de detașare.

Deoarece în acord cu Murphy și col., punțile laterale detașate nu se reatașază dacă nu sunt fosforilate de MLCK, menținerea stării *„latch"* ar depinde de furnizarea continuă de *latch bridges* de cele fosforilate anterior. Sunt necesare încă multe experimente pentru a înțelege reglarea stării LATCH.

2.5.3. Mecanismele reglatorii ale filamentului subțire

Evidențe considerabile sugerează un mecanism reglator al filamentului subțire, alături de fosforilarea miozinei. Cele două proteine ale filamentului subțire, caldesmona și calponina, ce au fost purificate și caracterizate biochimic, inhibă ATP-aza miozinei nefosforilate și defosforilate. Caldesmona se leagă de actină în

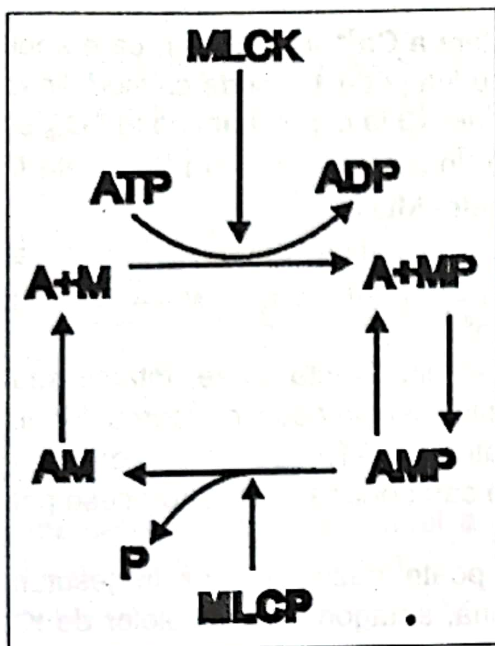


Fig. 2.5. – Model al punților *„cross bridges"* rapid ciclabile și al punților *„latch bridges"* lent ciclabile
(după Pfitzer și Rüegg)

absența Ca^{2+} și de calmodulină în prezența Ca^{2+}. Astfel, caldesmona poate regla interacțiunea actină-miozină printr-un mecanism flip-flop calciu calmodulin dependent. Într-adevăr, mulți investigatori au găsit inhibiția ATP-azei activate de actină, a miozinei fosforilate și defosforilate de către caldesmonă, inhibiție învinsă prin adăugarea de calciu în prezența calmodulinei. Dezinhibiția nu rezultă neapărat în disocierea caldesmonei de filamentele de actină-tropomiozină. Legarea crescută a miozinei de actină și inhibiția simultană a ATP-azei de către caldesmonă, îi permite acesteia să joace un rol de *latch* proteină.

În mușchiul neted contracția tonică este inițiată de o creștere temporară a Ca^{2+} liber mioplasmatic, dar apoi este menținută în starea *latch* la niveluri scăzute de Ca^{2+} și de fosforilare a lanțurilor ușoare de miozină. Relația Ca^{2+} liber intracelular cu forța de contracție nu este unică, ci variabilă. De exemplu, sensibilitatea la Ca^{2+} poate diferi în mușchiul neted și poate, de asemenea, depinde de tipul de stimulare și de durata contracției.

Relația variabilă a Ca^{2+} și activitatea contractilă sugerează că stabilirea unei anumite concentrații de Ca^{2+} nu poate fi pasul final în activarea răspunsului contractil. Ea este, din contră, începutul unei reacții în cascadă, implicând calmodulina ca receptor de Ca^{2+}, activarea MLCK, fosforilarea miozinei și interacția actină-miozină.

2.5.4. Rolul proteinkinazei C și a filamentelor intermediare

Proteinkinaza C (PKC) are un rol deosebit în susținerea contracției mușchiului neted al căilor respiratorii umane *in vitro* (YANG K., X. F., 1995). PKC, activată de calciu și DAG, este, de asemenea, implicată în modularea sensibilității la Ca^{2+}. Se cunosc 12 izoforme de PKC și este important de identificat care izoforme sunt implicate în contracția susținută și care prezintă o expresie anormală la astmatici. După distribuția tisulară și funcții au fost împărțite în trei grupe: grup A – izoformele convenționale sau calciu dependente: α, βI, βII, și γ; grup B – calciu independente sau izoforme noi: δ, ε, η și θ; grup C – izoforme atipice: λ, μ, τ și ζ. Faptul că în mușchiul neted al căilor respiratorii există multiple izoforme de PKC sugerează rolul complex al acestei enzime, atât în contracție, cât și în replicare (BLACK J. L., 1995).

PKC, fosforilează lanţurile grele ale miozinei, lanţurile uşoare ale miozinei la serina 1, serina 2, treonina 9 (DE LANEROLLE P., 1991), caldesmona şi proteine citoscheletale: desmina, filamina, vimentina (KAMM K. E., 1985). Semnificaţia fiziologică a acestor fosforilări este departe de a fi clară. Se sugerează că domeniul filamentelor intermediare poate fi implicat în reglarea contracţiei tonice, în timp ce domeniul actomiozinic este răspunzător de faza iniţială, rapidă a contracţiei.

DAG, rezultat din hidroliza fosfatidilinozitol-difosfat (PIP_2) sub acţiunea fosfolipazei C sau din fosfatidilcolină prin fosfolipaza D, activează specific izoenzima PKCε. Răspunsul contractil se realizează direct prin fosforilarea calponinei (CaP), cât şi indirect prin fosforilarea caldesmonei (CaD) de către MAP kinaze *(mitogen-activated protein kinase)*. Activarea cascadei MAP-K este urmată de scăderea afinităţii calmodulinei pentru actină, dezinhibarea ATP-azei miozinice şi formarea punţilor actomiozinice (ALLEN B. G., 1994) **(fig. 2/6)**.

Semnificaţia fiziologică a fosforilării LC_{20} prin proteinkinaza C, a fost investigată prin tratarea muşchiului neted cu forbolesteri. Forbolesterii, activatori ai proteinkinazei C induc dezvoltarea lentă a contracţiilor în fibre intacte şi denudate cu numai o uşoară creştere a fosforilării LC_{20}, care poate fi datorată unei creşteri

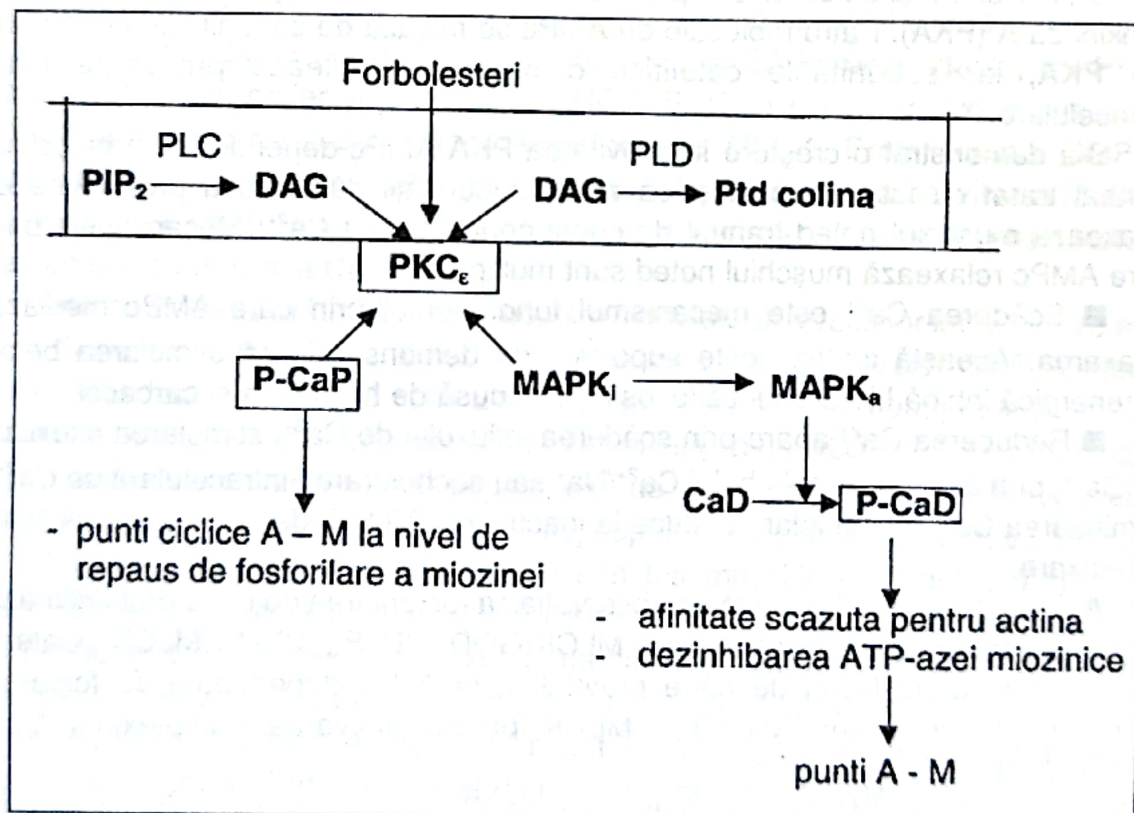


Fig. 2.6 – Reprezentare schematică a rolului proteinkinazei C (PKC) în realizarea răspunsului contractil a fibrei musculare netede

mici a Ca^{2+} urmată de activarea MLCK. Contracţia lentă indusă de forbolesteri este asociată cu încorporarea ^{32}P în proteinele filamentelor intermediare, şi anume, desmina, ca şi în caldesmonă. Un model similar de fosforilare s-a observat în timpul fazei tonice a contracţiei indusă de carbacol.

2.6. Efectele nucleotidelor ciclice AMPc (adenozina 3', 5' – ciclic monofosfat)

Creşterea nivelului de AMPc, indusă de activarea adenilat ciclazei, a fost asociată cu relaxarea muşchiului neted aerian (HARRIS A. L., 1989; POHL J., 1991; BARNES P. J., 1995). Adenilat ciclaza are o structură monomerică cu două domenii intramembranare hidrofobe, legate printr-o buclă intracelulară. Fiecare domeniu este alcătuit din şase α-helixuri. Situsurile catalitice se găsesc la nivelul buclei intracelulare şi a capătului (-COOH) terminal. Se descriu opt tipuri de adenilat ciclază. Receptorii β-adrenergici sunt asociaţi cu tipul VIII de adenilat ciclază activată de proteina Gs, urmată de creşterea intracelulară a AMPc. Concentraţia AMPc este reglată de fosfodiesteraze a căror activare se realizează în funcţie de nivelul AMPc, dar şi de cel al complexului Ca^{2+}– calmodulină. AMPc activează proteinkinaza A (PKA). Patru molecule de AMPc se fixează de subunităţile reglatoare ale PKA, iar subunităţile catalitice disociate fosforilează proteinele ţintă intracelulare.

S-a demonstrat o creştere în activitatea PKA AMPc-dependentă în muşchiul traheal tratat cu izoproterenol şi că adiţia subunităţii catalitice a proteinkinazei relaxează muşchiul neted traheal de cobai contractat cu Ca^{2+}. Mecanismele prin care AMPc relaxează muşchiul neted sunt multiple:

■ Scăderea Ca^{2+} este mecanismul fundamental prin care AMPc mediază relaxarea. Această ipoteză este suportată de demonstraţia că stimularea beta-adrenergică inhibă hidroliza inozitolfosfaţilor indusă de histamină şi carbacol.

■ Reducerea Ca^{2+} apare prin scăderea influxului de Ca^{2+}, stimularea efluxului de Ca^{2+}, prin activarea schimbului Ca^{2+}/Na^{+} sau sechestrarea intracelulară de Ca^{2+}. Diminuarea Ca^{2+} intracelular conduce la inactivarea MLCK, defosforilarea miozinei şi relaxare.

A doua ipoteză se bazează pe observaţia că fosforilarea de către proteinkinaza AMPc-dependentă scade activitatea MLCK(GODARD P., 1990). MLCK poate fi fosforilată în două locuri de către proteinkinaza AMPc-dependentă, fosforilarea ambelor situsuri scade afinitatea MLCK pentru activarea complexului Ca^{2+} calmodulină.

AMPc induce şi fosforilarea canalelor de K^{+}, activate de Ca^{2+}. Blocarea prin caribdotoxin şi iberiotoxin inhibă răspunsul bronhodilatator la beta-agonişti şi la alţi agenţi, care cresc concentraţia AMPc (BARNES P. J., 1994, BARNES P. J., 1995).

S-a demonstrat că o creştere a AMPc poate activa şi PKG, care va reduce concentraţia intracelulară a Ca^{2+} şi poate contribui astfel, la efectele relaxante ale beta-agoniştilor mediate de PKA (BARNES P. J., 1995).

GMPc (guanozină 3', 5', monofosfat)

GMPc este, de asemenea, cunoscut că relaxează muşchiul neted. Compuşi ca nitroprusiatul, care cresc nivelul GMPc intracelular, relaxează muşchiul traheal de bovine şi canine (DE LANEROLLE P., 1991). Sistemul de traducere al semnalului în relaxarea muşchiului neted de către EDRF, NO şi donori de NO implică activarea guanilat ciclazei şi producerea mesagerului secund GMPc (RAND M. J., 1995).

Studii asupra fibrelor denudate au demonstrat că adăugarea de GMPc sau proteinkinază GMPc-dependentă, relaxează fibrele contractile. Se consideră că acţiunea GMPc ar fi mediată prin activarea proteinkinazei GMPc-dependentă într-o manieră analogă activării proteinkinazei AMPc-dependentă. De fapt, un studiu a sugerat că proteinkinaza GMPc-dependentă poate fi mai importantă decât proteinkinaza AMPc-dependentă în relaxarea segmentelor traheale de cobai (FRANCISC S. H., 1988). Efectele GMPc, care conduc la relaxarea muşchiului neted, sunt exercitate prin activarea proteinkinazei GMPc-dependentă, cG-PKII, mai abundentă în creier şi plămân (FRANCIS S. H., 1994). Dar, mecanismul de acţiune al GMPc nu pare a implica fosforilarea MLCK. Proteinkinaza GMPc-dependentă fosforilează numai situsul B şi aceasta nu afectează activitatea MLCK.

Karaki şi colab. au sugerat că nitroprusiatul poate să scadă sensibilitatea elementului contractil la Ca^{2+}.

Diferite studii au arătat că GMPc poate fi modulatorul nivelurilor intracelulare ale Ca^{2+}. Cornwell şi Lincoln au arătat că introducerea proteinkinazelor GMPc-dependente, atenuează răspunsul contractil al celulelor musculare netede stimulate cu agoniştii contractili. Relaxarea muşchiului neted indusă de NO/GMPc, se realizează şi prin activarea canalelor de K^{+} dependente de Ca^{2+}, ceea ce induce hiperpolarizarea şi închiderea canalelor de Ca^{2+} voltaj dependente (GARTHWAITE J., 1995).

Contracţia muşchiului neted este, ca în toţi muşchii, Ca^{2+} activată. Totuşi, responsivitatea la calciu poate varia într-un domeniu larg atât în muşchiul intact, cât şi în structurile contractile izolate. Reglarea calciului este afectată printr-o multitudine de proteine reglatoare, incluzând lanţurile uşoare de miozină, calmodulină, caldesmonă şi calponină. Fenomenul numit *latch* intrigă cel mai mult şi a fost o problemă, chiar de când s-a realizat că muşchiul neted este unic în capacitatea sa de a menţine tensiune pentru perioade prelungite, cu consum mic de energie.

Date fiind noile metode de analizare a mecanismelor reglatoare intracelulare, se aşteaptă totuşi un progres rapid în acest domeniu.

BIBLIOGRAFIE

1. POPESCU L. M., *Ţesutul muscular neted.* În Histologie Medicală vol. I, Ed. Diculescu I., ONICESCU D. Editura Medicală, Bucureşti, 1987: 525–541.

2. MARTHAN R., STEPHENS N. L., *Mecanismes de l'hyperreactivite bronchique.* Rev. Mal. Resp., Masson, Paris, 1994, 11, 149–159.

3. DANIEL E. E., KANNAN M., DAVIS C., POSEY-DANIEL V., *Ultrastructural studies on the neuromuscular control of human tracheal and bronchial muscle.* Respir. Physiol. 1986, 63:109–123.

4. SMALL R. C., FOSTER R. W., *Electrophysiology of the airway smooth muscle cell.* In Asthma Basic Mechanisms and Clinical Management, Eds: Barnes P. J., Rodger I. W., Thomson N. C., Academic Press, London, 1988: 35–36.

5. KAMM K. E., STULL J. T., *Regulation of smooth muscle contractile elements by second messengers. Annu.* Rev. Physiol., 1989, 51:299–313.

6. HATHAWAY D. R., *Myosin light chain and heavy chain phoshorilation in smooth muscle: potential regulatory roles for calcium, phospholipidis and cyclic nucleotides.* Biochem. Soc. Trans., 1988, 16:499–501.

7. KAMM K. E., HSU L. C., KUBOTA Y., STULL J. T., *Phosphorilation of smooth muscle myosin heavy and light chains.* J. Biol. Chem., 1989, 264: 21223–21229.

8. KAMM K. E., *Myosin light chain kinase and kinctics of myosin phosphorilation in smooth muscle cells.* In vol. 245: Regulation and Contraction of Smooth Muscle, Eds: Siegman M. J., Somlyo A. P. and Stephens N. L., Allan R., Liss Inc., New-York, 1987, 183–193.

9. STULL J. T., TANSEY M. G., TANQ D. C., WORD R. A., KAMM K. E., *Phosphorylation of myosin light chain kinase. A cellular mechanism for Ca^{2+} desensitization.* Mol. Cell. Biochem. 1993, 128:229–37.

10. GERTHOFFER W. T., *Regulation of the contractile element of airway smooth muscle.* Am. J. Physiol. (Lung Cell Mol. Physiol., 5), 1991, 261: L15–L28.

11. ISHIKAWA R., *Anncaling of gelsolin-severed actin fragments by tropomyosin in the presence of Ca^{2+}. Potentiations of the annealing process by caldesmon.* J. Biol. Chem., 1989, 264: 16764–16770.

12. POIIL J., WALSH M. P., GERTHOFFER W. T., *Calponin and caldesmon phosphorilation in canine tracheal smooth muscle.* Biophys. J., 1991, 59:58a.

13. DE LANEROLLE P., PAUL R. J., *Myosin phosphorilation/dephosphorilation and regulation of airway smooth muscle contractility.* Am. J. Physiol., 1991, 261: 111–114.

14. WALSH M. P., *Caldesmon, a major actin and calmodulin-binding protein of smooth muscle. In Regulation and Contraction of Smooth Muscle.* Eds. Siegman M. J., Somlyo A. P., Stephens N. L., Alan R. Liss inc., 1987, 119–141.

15. WINDER S. J., WALSH M. P., *Calponin. Thin filament – linked regulation of smooth muscle contraction.* Cell. Signal 1993, 5, 677–86.

16. NECHIFOR M., DĂNILĂ GH., *Medicaţia musculaturii netede.* Centrala Ind. de Medica şi Cosm. Bucureşti, 1985.

17. DUGNIER C., *Calcium-calmoduline et vasomotricite. Des maladies du coeur et des vaisseaux,* 1991, 84 (sp. I): 25–34.

18. AKERMAN K. E. D., *Ca^{2+} transport and cell activation,* Medical Biology, 1982, 60:168–182.

19. MARTHAN R., ARMOUR C. L., JOHNSON P., BLACK J. I., *Extracellularcalcium and human isolated airway muscle: ionophore A23187 induced contraction,* Respiration Physiology, 1988, 71:157–168.

20. BRAUNWALD E., *Mecanism of action of Calcium Channel-Blocking Agents,* The New England Journal of Medicine, 1982, 307, 26:1618–1627.

21. BREEMEN C., SAIDA K., *Celular mechanisms regulating Ca^{2+} smooth muscle,* Annual Rev. Physiol., 1989, 51, 315–329.

22. BRUCE P. B., *Classes of calcium channels in vertebrate cells,* Annual Rev. Physiol, 1989, 51:367–384.

23. COBURN R. F., BARON C. B., *Coupling mechanisms in airway smooth muscle,* Am. J. Physiol. (Lung Cells Mol. Physiol), 1990, 258:L119–L133.

24. PETROIU A., SCHNEIDER F., MIHALAŞ G., ŞTEFĂNICĂ P., *Turnover-ul calciului miocitar (referat),* Timişoara Medicală, 1991, 36, 1:1–8.

25. TSIEN R. W., ELLINOR P. T., HORNE W. A., *Molecular diversity of voltage dependent Ca^{2+} channels, Trends Physiol.* Sci., 1991, 12:349–354.

26. DUPUIS B. A., ADAMANTIDIS M. M., *Canaux calciques cardiaques: propriétés générales et protection miocardique, Simposium International,* Paris, 1987, 1–22, publé par Excerpta Medica.

27. RAEBURN D., *Calcium Entry blocking Drugs: Their classification and sites of action in smooth muscle,* Medical Biology, 1987, 65,4:175–180.

28. BEAN B. P., *Classes of calcium channels in vertebrate cells.* Annu. Rev. Physiol., 1989, 51:367–384.

29. TIAHO F., NARGEOT J., RICHARD S., *Voltage dependent regulation of L-type cardiac Ca^{2+} channels byisoproterenol.* Pflüger Arch., 1991, 419:596–602.

30. BOCKAERT J., *Les proteines G étendent leur pouvoir sur les canaux ioniques.* Medecine/Sciences, 1989, 5:562–569.

31. KUO C. C., BEAN B. G., *G-protein modulation of ion permeation through N-type calcium channels.* Nature, 1993, 365:258–262.

32. FOSSET M., JAIMOVICH E., DELPONT E., LAZDUNSKI M., *[3H] nitrendipine receptors in skeletal muscle,* J. Biol. Chem., 1983, 258:6086–6092.



65. SOMLYO A. P., SOMLYO A. V., *Signal transduction and regulation in smooth muscle.* Nature, 1994, vol. 372:231–236.

66. PFITZER G., RUEGG J. C., *Smooth muscle activation. Advances in Comparative and Environmental Physiology,* vol. 12, Ed. H. Sugi, Springer–Verlag Berlin Heidelberg, 1992, 63–86.

67. ALLEN B. G., WALSH M. P., *The biochemical basis of the regulation of smooth–muscle contraction.* TIBS 19, Elsevier Science Ltd, 1994, 362–368.

68. PHOL J., WALSH M. P., GERTHOFFER W. T., *Calponin caldesmon phosphorilation in canine tracheal smooth muscle.* Biopsys. J., 1991, 59:58a.

69. GODARD P., RAY P., et al., *Traitement de l'inflammation bronchique.* Rev. Prat. (Paris), 1992, 42 (19):2458–2463.

70. RAND M. J., LI C. G., *Nitric oxides as a neurotransmitter in peripheral nerves: Nature of Transmitter and Mechanism of Transmission.* Annu. Rev. Physiol., 1995, 57:659–682.

71. FRANCIS S. H., BRADLEY D. N., et al., *Relaxation of vascular and tracheal smooth muscle by cyclic nucleotide analogs that preferentially activate purified cGMP-dependent protein kinase.* Am. Soc. Pharm. Exp. Ther., 1988, 34:507–517.

72. FRANCISC S. H., CORBIN J. D., *Structure and function of cyclic nucleotide – dependent protein kinases.* Annu. Rev. Physiol., 1994, 56:237–272.

73. GARTHWAITE J., 1995, BOULTON C. L., *Nitric oxide signaling in the central nervous system.* Annu. Rev. Physiol., 1995, 57:683–706.



3. REGLAREA NERVOASĂ A CONTRACTILITĂȚII MUSCULATURII NETEDE TRAHEO-BRONȘICE

La nivelul căilor respiratorii sistemul nervos autonom îndeplinește numeroase funcții: modularea tonusului bronșic și volumul secrețiilor, controlul debitului sanguin și al permeabilității vasculare, cât și modularea eliberării de mediatori din mastocite (BARNES P. J., 1990).

Rolul sistemului nervos autonom a făcut obiectul a numeroase cercetări. Studiile din ultimii ani sugerează că structura sa este mult mai complexă și că tonusul bronhomotor și reactivitatea bronșică la iritanți este influențată de interacțiunea efectelor neurotransmițătorilor cu cea a mediatorilor inflamatori.

3.1. Rolul sistemului nervos colinergic

Inervația parasimpatică colinergică reprezentată de nervii vagi constituie cel mai important sistem nervos bronhoconstrictor la om și animal. Rolul său în obstrucția bronșică se realizează prin mecanisme multiple. Densitatea inervației colinergice este mai mare în căile proximale și diminuă spre bronhiolele terminale (BARNES P.J., 1992b).

Căile aferente ale unui reflex colinergic constau din fibre mielinizate și fibre C nemielinizate, care au punct de plecare mai multe tipuri de receptori din căile aerifere. Sunt cunoscuți astfel ***receptorii de distensie*** (mecanoreceptori) ca terminații nervoase ale fibrelor mielinizate situate în căile respiratorii, responsabili de reflexul Hering-Breuer.

Receptorii de iritație, numiți și receptori de adaptare rapidă, de asemenea terminații nervoase ale fibrelor mielinizate situate între și sub celulele epiteliale, sunt sensibili la stimuli chimici cum ar fi gazele toxice sau la diverse particule inhalate. Stimularea lor antrenează o bronhoconstricție reflexă.

Terminațiile fibrelor C sunt nemielinizate și conțin neuropeptide. La pisică fibrele aferente nemielinizate sunt în raport de 3/1 cu cele mielinizate. Aceste fibre sunt stimulate selectiv de capsaicină, bradikinină și prostaglandine. Ele pot media

unele din efectele atribuite anterior receptorilor iritanţi. Stimularea lor poate produce bronhoconstricţie severă.

Fibrele postganglionare ale nervilor vagi, provenind din neuronii ganglionari situaţi în peretele bronşic, sunt scurte şi inervează muşchiul neted şi glandele submucoase. Acetilcolina eliberată de fibrele colinergice postganglionare activează receptorii muscarinici.

În plămânul uman s-au identificat trei subtipuri de receptori muscarinici M_1, M_2 şi M_3, ce mediază diferite funcţii în căile respiratorii incluzând neuromodulaţia (BARNES P. J., 1992a). În plămânul de iepure s-au mai descris două tipuri de receptori muscarinici M_4 şi M_5, dar care nu au putut fi identificaţi în plămânul uman (MARK J. C., 1992).

Agoniştii receptorilor M_1, M_3 şi M_5 stimulează prin intermediul proteinei Gq hidroliza fosfatidilinozitolului membranar ce va induce, prin IP_3, creşterea concentraţiei intracelulare a Ca^{2+}. Receptorii M_2 şi M_4 inhibă adenilat ciclaza prin intermediul proteinei Gi (BARNES P.J., 1994).

Receptorii M_1 sunt prezenţi în glandele submucoase, la nivelul peretelui alveolar şi la nivelul ganglionilor parasimpatici. Studii la animal *in vivo* şi *in vitro,* cât şi pe preparate de bronhie umană *in vitro* au demonstrat că prin stimulare vagală sau prin câmp electric se induce o secreţie mucoasă. Utilizarea antagoniştilor specifici a permis să se demonstreze că receptorii implicaţi în această secreţie sunt de tip M_1 şi respectiv M_3. Receptorii M_1 sunt inhibaţi selectiv de pirenzepin. Transmisia stimulului la nivel ganglionar este asigurată de activarea receptorilor nicotinici de către acetilcolină. Activarea receptorilor de tip M_1, situaţi la acest nivel, are un rol facilitator asupra transmisiei parasimpatice. Mai mult, probabil că sunt responsabili de măsura filtrării stimulilor de la nivelul ganglionilor parasimpatici, fiind descrişi şi pe terminaţiile nervoase simpatice. În traheea de cobai au rolul de a inhiba eliberarea noradrenalinei care modulează neurotransmisia colinergică în ganglion.

Receptorii M_2 sunt localizaţi pe muşchiul neted bronşic în proporţie redusă. În schimb, au fost puşi în evidenţă la nivelul fibrelor parasimpatice postganglionare. Au rol în inhibarea eliberării de acetilcolină, limitând bronhoconstricţia. Aceşti receptori sunt inhibaţi specific de galamină. Au fost demonstraţi funcţional *in vitro* la cobai, iepuri şi pisici, deoarece galamina potenţează efectele bronhoconstrictoare ale stimulării nervului vag, fără a induce un efect echivalent la perfuzia cu acetilcolină.

Activarea receptorilor muscarinici M_2 din fibrele colinergice postganglionare antrenează o inhibiţie a contracţiei colinergice a muşchiului neted bronşic indus prin câmp electric. Astfel, s-a descris un feed-back al eliberării de acetilcolină, prin însăşi acetilcolina eliberată, care activează autoreceptorii M_2 localizaţi pe

terminaţiile colinergice din căile aerifere şi limitează propria eliberare (BARNES P. J., 1996).

Receptorii M_3 sunt prezenţi în număr mare la nivelul fibrei musculare netede a bronhiilor mari. Densitatea lor diminuă în căile aerifere mici şi sunt aproape absenţi în bronhiolele terminale. Au fost, de asemenea, identificaţi la nivelul epiteliului bronşic, glandelor submucoase şi a vaselor bronşice (MARK J. C., 1992). Receptorii M_3 mediază contracţia muşchiului neted al căilor respiratorii, vasodilataţia şi secreţia de mucus. Reprezintă cea mai mare proporţie de receptori muscarinici (JANSSEN L. J, 1990). Mediază toate efectele postganglionare ale acetilcolinei. *In vitro,* la animal, bronhoconstricţia indusă prin agoniştii colinergici a fost observată la trahee şi bronhiile mari, fiind mediată de receptori M_3 (BARNES P. J., 1992a).

Efectele sistemului nervos colinergic

- *Bronhoconstricţia,* mediată prin receptorii M_3, este evidenţiată în prezenţa agoniştilor muscarinici de tipul carbacolului şi a metacolinei. Efectul bronhoconstrictor este amplificat de anticolinesteraze şi este deprimat de antagoniştii muscarinici. *In vitro,* contracţia colinergică a muşchiului neted bronşic, indusă de stimularea în câmp electric este mai puternică la bronhiile mari decât la bronhiole; datele experimetale fiind în concordanţă cu localizarea receptorilor M_3.
- *Hipersecreţia de mucus* a fost evidenţiată *in vivo* şi *in vitro* în urma stimulării vagale sau în câmp electric. Cu ajutorul agoniştilor specifici, s-a stabilit că subtipurile de receptori muscarinici implicaţi în această secreţie sunt M_3 şi M_1.
- *Neuromodularea* prin receptorii colinergici are mai multe caracteristici. În primul rând, transmisia ganglionară în căile respiratorii este asigurată de activarea receptorilor nicotinici şi este mediată de acetilcolină. Activarea receptorilor M_1, localizaţi la acest nivel, joacă un rol facilitator asupra transmisiei parasimpatice. Spre deosebire de receptorii nicotinici, care au rol în controlul neurotransmisiei „rapide", receptorii M_1 intervin în controlul cronic al transmisiei ganglionare (BARNES P. J., 1992b).

Prin receptorii M_2 localizaţi pe fibrele ganglionare, se realizează retrocontrolul eliberării acetilcolinei prin însăşi acetilcolina eliberată care activează acest tip de „autoreceptor".

3.2. Sistemul adrenergic

Plămânul uman, contrar altor specii animale, nu conţine decât foarte puţine fibre nervose simpatice (BARNES P. J., 1986). Fibrele postganglionare din ganglionul cervical mijlociu şi inferior pătrund în hil cu nervii colinergici, formând un plex în jurul căilor respiratorii şi al vaselor. În contrast cu densitatea nervoasă parasimpatică, inervaţia simpatică este, în general, rară şi prezintă variaţii mari între

specii. Richardson, într-o lucrare din 1976, arăta că inervaţia simpatică a muşchiului neted respirator este practic inexistentă (MICHOUD C., 1994).

Prezenţa fibrelor simpatice a fost demonstrată la nivelul vaselor bronşice, glandelor submucoase şi în ganglionii parasimpatici. Terminaţiile nervoase simpatice conţin, alături de noradrenalină, un comediator, neuropeptidul Y şi encefalina ce se eliberează împreună cu noradrenalina.

Receptorii β adrenergici sunt β_1 şi β_2, proporţia lor variind la diversele specii. Receptorii β_3, foarte diferiţi de β_1 şi β_2 (omologie 50%), corespund cu β-receptorii „atipici“ descrişi în ţesutul adipos şi s-au evidenţiat şi la nivelul căilor respiratorii (KRIFF S., 1993).

Deşi, iniţial, β-receptorii muşchiului neted al căilor respiratorii au fost identificaţi ca β_2, studii ulterioare, utilizând tehnici de legare direct de receptor şi antagonişti β selectivi, au confirmat coexistenţa β_1 şi β_2, cu un raport β_1/β_2 de aproximativ 1/3.

Receptorii β_2 sunt prezenţi în celulele musculare netede respiratorii de la trahee la bronhiolele terminale, în celulele epiteliale, pneumocite, celulele Clara şi glandele submucoase, mastocite, de asemenea, pe celulele endoteliale şi celulele musculare netede vasculare. În plus, studii farmacologice sugerează prezenţa receptorilor β_2 la nivelul ganglionilor parasimpatici intramurali, pe fibrele colinergice postganglionare şi pe nervii senzitivi.

Studii funcţionale paralele pe acelaşi ţesut *in vitro* arată că relaxarea la β-agoniştii exogeni este mediată de receptorii β_2, în timp ce relaxarea la stimularea nervoasă simpatică este mediată de receptori β_1. Aceste observaţii sunt în acord cu ipoteza că receptori β_1 sunt reglaţi de nervii simpatici (β-receptori inervaţi), în timp ce receptorii β_2 sunt reglaţi de adrenalina circulantă (β-receptori hormonali).

β-agoniştii acţionează ca „antagonişti funcţionali“ şi inhibă sau reversează răspunsurile contractile ale diverşilor stimuli: LTD_4, histamină, acetilcolină şi bradikinină.

Mecanismul intracelular implicat în medierea efectelor relaxante ale β-agoniştilor au fost foarte mult investigate. β-receptorii stimulaţi, prin creşterea concentraţiei intracelulare a AMPc, activează PKA care acţionează fosforilând proteinele ţintă. Astfel în muşchiul neted al căilor respiratorii PKA inhibă fosforilarea lanţurilor uşoare ale miozinei, inhibă hidroliza PIP_2, stimulează schimbul Ca^{2+}/Na^+, ceea ce duce la scăderea concentraţiei intracelulare a Ca^{2+} şi, de asemenea, stimulează ATP-aza Na^+/K^+. Aceste efecte sunt observate numai la concentraţii relativ ridicate de β-agonist.

Un efect important al β-agoniştilor este reprezentat de închiderea canalelor K_{Ca}, observat la concentraţii scăzute ale acestora *in vitro* pe căi respiratorii umane, sugerând a fi mecanismul major al relaxării muşchiului neted bronşic la β-agonişti.

Aceasta ar explica de ce forskolin-ul, care crește foarte mult concentrația intracelulară a AMPc, are un efect slab relaxant al căilor respiratorii. β-agoniștii au, de asemenea, efecte inhibitorii asupra proliferării induse de factorul de creștere epidermal și de agonistul α_2 clonidină, sugerând că pot contracara remodelarea structurală a căilor respiratorii în astmul bronșic (BARNES P.J., 1995).

Glandele submucoase care primesc o inervație simpatică difuză au o populație mică de receptori β_1 (10%), majoritatea fiind β_2 și a căror stimulare induce creșterea secreției.

β-receptorii epiteliali sunt de subtipul β_2. β-agoniștii stimulează transportul ionului de clor și secreția apei, rezultând un clearance mucociliar crescut, efectul fiind mai intens când acesta este deja scăzut, ca în astm. Unele studii pe căi respiratorii animale au demonstrat că izoproterenolul este un relaxant mai eficient în prezența celulelor epiteliale intacte, sugerând că β-agoniștii intervin în eliberarea, de către acestea, a unui factor relaxant.

Celulele Clara, prezente în epiteliul uman bronhiolar sunt stimulate de β-agoniști ca și pneumocitele de tip II, care secretă surfactant. Mastocitele, macrofagele și eozinofilele prezintă numai receptori β_2.

β-agoniștii inhibă eliberarea de mediatori din celulele mastocitare, eliberare indusă de antigene pe fragmente de plămân uman *in vitro*. Iar *in vivo* un β-agonist previne creșterea histaminei plasmatice după provocare antigenică, sugerând că o concentrație terapeutică de β-agoniști poate inhiba eliberarea madiatorilor mastocitari. Edemul indus de histamină în căile respiratorii de cobai este redus prin pretratament cu un β-agonist, sugerând că β-receptorii pot regla permeabilitatea microvasculară bronhială. Nu sunt evidențe că β-agoniștii reversează edemele căii aerifere, deși ei sunt capabili de prevenirea dezvoltării lor.

β-agoniștii pot, de asemenea, modula neurotransmisia colinergică la nivelul ganglionilor colinergici sau la terminațiile nervoase. Se presupune că acesta ar fi un loc important de acțiune pentru β-agoniști în astmul bronșic. *In vitro*, pe bronhie de cobai, β-agoniștii inhibă răspunsul excitator non-adrenergic non-colinergic. Modularea este mediată prin receptori β_2 și β_3 ai fibrelor senzitive (BARNES P. J., 1995).

Mecanismele de control ale expresiei receptorilor β-adrenergici se referă la un mecanism rapid, ce constă în decuplajul funcțional sau desensibilizarea receptorilor prin scăderea afinității față de ligand și un mecanism lent de reglare negativă sau internalizare, degradare și control transcripțional al receptorilor, cu scăderea numărului de receptori β-adrenergici exprimați pe suprafața celulară. Desensibilizarea are la bază fosforilarea capătului COOH- terminal la nivelul resturilor serină-treonină sub acțiunea β-kinazei receptorului adrenergic (β-ARK) și a buclei I3 sub acțiunea PKA. Aceste fosforilări cresc abilitatea unei alte proteine – β arrestină – de a se fixa pe această extremitate și de a împiedica interacțiunea cu proteina G.



Receptorii α ***adrenergici*** sunt clasificați, după proprietățile farmacologice, în două subtipuri: α_1 și α_2. În plămânul uman există puțini receptori α-adrenergici.

Receptorii α_1 sunt localizați pe vasele pulmonare și, de asemenea, par să existe pe celulele epiteliului bronșic. Studii farmacologice sugerează prezența receptorilor α_2 la nivelul glandelor submucoase, ganglionilor parasimpatici intramurali, pe fibrele nervoase colinergice și fibrele C senzitive (BARNES P. J., 1992a).

Stimularea α-adrenergică crește secreția de mucus și produce o contracție a mușchiului neted respirator numai dacă țesuturile au fost contractate în prealabil cu histamină sau serotonină. S-a observat că prazosinul – un α-antagonist cu o mare selectivitate pentru α_1 – determină bronhodilatare după administrarea orală. Inhalat nu a avut efect bronhodilatator la subiecții astmatici și nici un efect asupra bronhoconstricției indusă de histamină, dar a realizat o protecție parțială împotriva bronhoconstricției indusă de efort, sugerând implicarea α_1 receptorilor în acest răspuns (BARNES P. J., 1988).

Mecanismul prin care β-blocantele produc bronhoconstricție este nesigur. Probabil apare o eliberare crescută de acetilcolină în vecinătatea fibrelor musculare netede. La subiecții normali aceasta n-ar avea efecte detectabile asupra funcției căilor aerifere, dar la astmatici produce bronhoconstricție, aceștia fiind hiperresponsivi la acetilcolină.

Deoarece β_2-agoniștii atenuează bronhospasmul, a fost logic să se sugereze că la baza hiperresponsivității bronșice ar putea fi un defect al funcției β-receptorilor. Dar blocarea cronică a β-receptorilor nu produce astm bronșic sau hiperresponsivitate la subiecți normali. Totuși, numeroase studii avansează ideea unei „scăderi" a funcției β-receptorilor secundară bolii, ca rezultat al eliberării de mediatori inflamatori. Procesul inflamator local ocupă un loc primordial în patogenia astmului prin multitudinea de mecanisme în care este implicat. S-a evidențiat că mediatorii inflamației ca leucotriene LC_4, LB_4, PAF sau speciile reactive ale oxigenului pot afecta funcția β-receptorilor și explică rezistența la tratamentul cu β-agoniști a unor forme de astm bronșic (MICHOUD M.C., 1994). Mecanismul de acțiune al mediatorilor inflamatori se declanșează în urma activării unor receptori specifici din fibra musculară netedă traheo-bronșică, urmată de activarea hidrolizei fosfoinozitidelor și generarea de DAG. Acesta activează proteinkinaza C, care poate fosforila atât receptorul β_2, cât și subunitatea α a proteinei Gs, rezultatul fiind blocarea cuplării receptorului cu adenilat ciclaza sau fenomenul de down-regulation (BLACK I. L., 1996). Un mecanism similar de alterare a funcției receptorului β poate fi indus și de acetilcolină (BARNES P. J., 1995). Un defect al β-receptorilor se poate întâlni nu numai la nivelul mușchiului neted al căilor respiratorii, înclinând balanța în favoarea constricției colinergice și posibil α-adrenergice, dar, de asemenea, ar

crește eliberarea de mediatori mastocitari și tendința de a dezvolta edeme ale peretelui bronșic. Și neuromodularea din ganglionii parasimpatici poate fi afectată de mediatori eliberați de celulele mastocitare care înconjoară acești ganglioni.

3.3. Sistemul non-adrenergic non-colinergic

Pe lângă sistemele clasice, adrenergice și colinergice, un rol deosebit revine unei a treia entități: sistemul non-adrenergic, non-colinergic (NANC). Insensibil la antagoniștii colinergici și adrenergici, reprezintă un sistem complex capabil să inducă alternativ bronhoconstricție și bronhodilatație, vasoconstricție și vasodilatație modulând producerea de mucus, prin intermediul mai multor neuropeptide cu rol de neurotransmițători. În același timp pot juca rol important ca modulatori ai neurotransmisiei în căile respiratorii. Acționează ca și mediatori ai nervilor autonomi din căile respiratorii și pot induce amplificarea sau inhibarea efectelor mediatorului primar.

3.3.1. Sistemul NANC excitator

Existența sistemului nervos NANC excitator în căile respiratorii a fost evidențiată la cobai, *in vitro,* când stimularea bronhiilor prin câmp electric sau a nervilor vagi *in vivo* a indus o bronhoconstricție neinhibată de antagoniști colinergici sau adrenergici, dar a fost blocată prin tetrodoxină, indicând astfel natura sa neurală (ANDERSSON R. G., 1983).

Această bronhoconstricție a mai fost abolită printr-un pretratament cu capsaicină, substanță care induce depleția de neuropeptide din fibrele C senzitive. O parte a acestora conțin neuropeptide, dintre care principalele sunt ***tahikininele:*** substanța P (SP), neurokininele A (NKA), peptidul derivat din gena calcitoninei (CGRP) și peptidul eliberator de gastrină.

Lundberg J.M. descrie o imunoreactivitate a SP în fibrele senzitive ce inervează adventicea vaselor, epiteliul bronșic, fibrele musculaturii netede bronșice și ganglionii parasimpatici (MICHOUD M. C., 1994). Mai multe studii au demonstrat că în plămânul uman și cobai, receptorii marcați prin SP iodată sunt prezenți în număr mare pe mușchiul neted bronșic de la trahee la bronhiole și pe epiteliu bronșic și glandele submucoase. Receptorii pentru NKA sunt prezenți pe mușchiul neted bronșic. Efectele tahikininelor sunt legate prin activarea C-terminală de receptorii specifici: NK-1 pentru SP și NK-2 pentru NKA (FROSSARD N., 1991).

Traducerea semnalului de către receptorii specifici se realizează prin activarea fosfolipazei C și sinteza de inozitol-1, 4, 5 P_3 (IP_3), urmată de creșterea intracelulară a calciului (DRAZEN J. M., 1995). Substanța P mai poate avea și efecte legate de extremitatea N-terminală activând un situs membranar, diferit de receptorii pentru tahikinină, care ar putea fi o proteină G.

Studii *in vitro* au demonstrat că neurokinina A şi agoniştii selectivi de NK-2 induc o contracţie a muşchiului neted bronşic mai puternică decât SP, iar antagoniştii selectivi NK-2 blochează acest efect. Antagoniştii receptorilor NK-1 şi NK-2 atenuează obstrucţia căilor respiratorii produsă de bradikinină la astmatici, ceea ce sugerează că tahikininele pot contribui la bronhospasmul indus de acest peptid (DRAZEN J. M., 1995).

În schimb, efectele induse pe vasele bronşice, studiate *in vivo* şi *in vitro* la animale, constând în relaxarea acestora şi creşterea permeabilităţii se datoresc, în special, substanţei P. Aceasta stimulează şi secreţia de mucus din glandele calciforme şi glandele submucoase. Cele mai complexe efecte sunt realizate asupra celulelor inflamatorii. Astfel SP induce o eliberare de radicali liberi, prin activarea receptorilor NK-1 ale polimorfonuclearelor neutrofile (PMN). Prin fragmentul N-terminal, activând un situs diferit de receptor, creşte fagocitoza PMN.

In vitro SP a accentuat efectul chemotactic indus de PAF şi de leucotriena B_4 asupra eozinofilelor.

Rolul produşilor mastocitari: histamina, leucotrienele LTC_4, LTD_4 şi a factorului activator plachetar (PAF) în eliberarea SP şi NKA în căile respiratorii a constituit subiectul a numeroase studii. Astfel, răspunsul bronhoconstrictor la histamină a fost găsit scăzut la cobaii pretrataţi cu capsaicină, ce a indus depleţia de tahikinine (DRAZEN J. M., 1995). De asemenea, tot la animale pretratate cu capsaicină poate fi prevenită hiperreactivitatea indusă de PAF (PERRETTI F., 1993). Pe preparate de cobai, antagoniştii receptorilor de tahikinine scad, iar inhibitorii endopeptidazei cresc răspunsul contractil la LTD_4.

Rolul tahikininelor în eliberarea produşilor mastocitari, ca şi stimularea prin leucotriene şi histamină a tahikininelor au condus la evidenţierea interacţiunii dintre fibrele C şi mastocite. În experimentele pe bronhie izolată de cobai cu nervul vag intact, stimularea nervoasă a avut un efect bifazic. Prima fază este mediată colinergic, iar a doua fiind abolită prin tratament cu doze mari de capsaicină, s-a considerat că este mediată de fibrele C (ELLIS J. L., 1991). Diferit faţă de piele, în plămânul uman, SP nu induce eliberarea de histamină, deşi mastocitele se găsesc în apropierea fibrelor C din căile aerifere. Tahikininele sunt degradate în căile respiratorii prin enzima de conversie a angiotensinei, localizată pe endoteliul vascular şi prin endopeptidaza neutră de la nivelul epiteliului bronşic (BARNES P. J., 1996).

Amplificarea efectelor SP şi NKA a fost observată *in vitro* pe preparate cu epiteliu denudat. Acelaşi lucru se poate întâlni într-o distrucţie parţială a epiteliului descrisă în astm sau într-o infecţie virală (BORSON D. B., 1991).

Rolul tahikininelor în hiperreactivitatea bronşică la subiecţii atopici a fost evidenţiat prin inducerea unei bronhoconstricţii puternice. Măsurând modificările înregistrate pe curba flux-volum, NK este de 10–100 ori mai bronhoconstrictoare la astmatici faţă de subiecţii normali (CHEUNG D., 1993). În plus, prin mecanismul de facilitare colinergică, creşte eliberarea de acetilcolină la nivelul fibrelor postganglionare, care va exacerba efectul bronhoconstrictor. Inflamaţia cronică



determină creşterea producţiei de tahikinine şi, în plus, prin factorul de creştere al nervilor *(nerve growth factor)* favorizează proliferarea nervilor senzitivi.

Peptidul generat din gena calcitoninei (CGRP) a fost colocalizat cu SP în fibrele C senzitive la om şi la animal, dar poate fi prezent şi în fibre care nu conţin SP şi în celule neuroendocrine localizate în epiteliul bronşic (BARNES P.J., 1991). CGRP se leagă de receptorii de suprafaţă specifici localizaţi pe vasele bronşice, muşchiul neted şi epiteliul bronşic. CGRP are un tropism preferenţial vascular. Este puţin probabil să producă bronhoconstricţie, dar are efect vasodilatator, fără a induce creşterea permeabilităţii vasculare. S-a descris şi un efect anti-inflamator prin inhibarea proliferării limfocitelor T, scăderii activării acestora de către macrofage (MICHOUD M. C.,1994).

Peptidul eliberator de gastrină (GRP) la mamifere este echivalentul bombesinei la amfibieni. O imunoreactivitate pentru GRP a fost localizată în celulele neuroendocrine a căilor respiratorii la om şi animal, la nivelul fibrelor C senzitive inervând vasele şi glandele submucoase. Locurile sale de fixare au fost identificate pe epiteliul bronşic şi la nivelul glandelor submucoase din trahee. Este un puternic bronhoconstrictor la cobai, *in vivo,* dar nu contractă muşchiul neted al căilor respiratorii *in vitro,* sugerând existenţa unui mecanism indirect de acţiune. Efectul este redus de atropină şi neinfluenţat de capsaicină, indicând o implicare a răspunsului nervos colinergic.

Sintetizând rolul tahikininelor sunt de subliniat următoarele aspecte:

● Eliberarea acestor neuropeptide se realizează prin ***„reflexul de axon“.***

După excitarea terminaţiilor nervoase senzitive situate în epiteliul bronşic, fibrele nervoase NANC sunt capabile prin conducere retrogradă să elibereze diverse tahikinine şi să inducă printr-un fel de scurt-circuit local: bronhoconstricţie, creşterea permeabilităţii vasculare şi hipersecreţiei de mucus.

În condiţii fiziologice aceste tahikinine sunt rapid degradate prin enzime ca endopeptidaze neutre sau enkefalinaze localizate în epiteliul bronşic (NADEL J. A., 1991). Descuamarea epiteliului observată în astm, are drept consecinţă un catabolism scăzut al tahikininelor şi astfel apare o amplificare a efectelor lor. Infecţiile virale ale căilor respiratorii, substanţele oxidante, şi fumul de ţigară au aceleaşi efecte.

● Tahikininele sunt capabile să acţioneze direct pe o serie de celule ce vor elibera mediatori inflamatori. Descuamaţia epiteliului, cu pierderea enkefalinazelor induce pe cale retrogradă o secreţie locală crescută de neuropeptide eliberate prin reflexul de axon, antrenând o exacerbare a reacţiei inflamatorii bronşice şi acreditează noţiunea de inflamaţie neurogenă (BARNES P.J., 1990; TONNEL A. B., 1992).

3.3.2. Sistemul NANC inhibitor

Realizează o relaxare a fibrelor muşchiului neted bronhial având ca posibili candidaţi pentru neurotransmitere polipeptidul intestinal vasoactiv (VIP), oxizii de azot (NO_x) şi purinele (BELVISI M.G., 1992).

***Polipeptidul intestinal vasoactiv* (VIP)**

Studii electronomicroscopice au arătat că VIP poate fi prezent în nervii colinergici ai căilor respiratorii, deci ar fi un cotransmiţător al acetilcolinei. VIP reduce efectul contractil al aceticolinei *in vitro* şi poate acţiona ca un mecanism de *„braking"* al bronhoconstricţiei colinergice (BARNES P. J., 1992). VIP are un efect inhibitor important asupra răspunsului contractil la stimularea în câmp electric, mai important decât cel legat de acetilcolina exogenă în experimentele pe trahee de cobai, ceea ce sugerează că VIP poate reduce eliberarea de acetilcolină din terminaţiile nervoase postganglionare. VIP relaxează bronhiile umane *in vitro* şi este aproape de 100 de ori mai potent decât izoprenalina, fiind mediatorul bronhodilatator endogen cel mai puternic (PALMER J. B., 1986).

Mecanismul de acţiune intracelulară se realizează prin activarea de către receptorii VIP a proteinei Gs, ce induce creşterea AMPc (BARNES P. J., 1994).

VIP are, de asemenea, efect inhibitor asupra eliberării de peptide din terminaţiile nervoase senzitive. Unele studii arată că pretratamentul preparatelor tisulare cu enzime proteolitice, capabile să inactiveze VIP, scad amplitudinea relaxării induse de NANCi (BELVISI M.G., 1992).

VIP este foarte sensibil la enzime proteolitice. Rapida sa degradare prin triptază, mediator al mastocitelor, facilitează apariţia bronhospasmului (TONNEL A.B., 1992). Şi α-chimotripsina, care degradează rapid VIP endogen, are efecte similare.

Oxizii de azot (NO_x)

NO_x pot fi sintetizaţi enzimatic şi eliberaţi de terminaţiile nervoase ale sistemului nervos central şi de terminaţiile nervoase colinergice din căile respiratorii.

Oxidul nitric (NO) este produs prin transferul a cinci electroni de la azotul guanidinic al L-argininei către oxigenul molecular, transfer catalizat de NO-sintaze (NOS). Au fost izolate şi clonate mai multe izoforme distincte ale NOS. Izoformele NOS constitutive (cNOS) cum ar fi cele găsite în celulele epiteliale şi ţesutul nervos sunt rapid activate de stimuli ca acetilcolina şi bradikinină, care acţionează prin legarea calmodulinei mediată de calciu. Formele inductibile (iNOS), ca cele izolate din macrofage, sunt reglate la nivelul transcripţiei şi nu sunt dependente de calciu pentru activare. Aceasta este indusă de citokine şi endotoxine, iar sinteza lor este inhibată de glucocorticoizi (DRAZEN, J.M., 1995).

NOS se găsesc într-o varietate de tipuri celulare pulmonare incluzând celule epiteliale, macrofage, neutrofile, mastocite, neuroni, fibroblaşti, celule musculare netede şi celule endoteliale vasculare. Produşii endogeni ai oxidării azotului pot fi molecule ca S-nitrozotioli (RS-NO), ce realizează relaxarea muşchiului neted din căile aerifere sau peroxinitriţii ($OONO^-$), ce pot induce leziuni tisulare. Contracţiile muşchiului neted din căile respiratorii umane sau de cobai induse de histamină şi leucotriena D_4 sunt reversate de RS-NO (GASTON B., 1994).

Concentraţia NO_x necesară pentru a induce relaxarea bronşică la om sau cobai este comparabilă cu a teofilinei sau izoproterenolului (GASTON B., 1994; JANSSEN A., 1992). NO_x relaxează muşchiul neted bronşic dependent de originea

speciei, de mărimea bronhiei și de integritatea epiteliului bronșic. De exemplu relaxarea bronșică a unor preparate de bovine produsă de NO_x exogeni, din nitroglicerină și nitroprusiat, este mai intensă în zona proximală decât în cea distală. RS-NO este mai puternic relaxant al traheei de cobai decât al traheei de canine sau a bronhiei umane. NO dizolvat relaxează traheea de cobai mai puternic pe preparate cu epiteliu denudat decât în preparate cu epiteliu intact.

În ceea ce privește mecanismul de acțiune, legarea NO de guanilat ciclază determină activarea enzimatică, ce traduce efectul la nivel celular. Pe preparate traheale de canine și cobai, inhibitori ai guanilat ciclazei reduc relaxarea indusă de RS-NO (JANSSEN A., 1992).

S-a demonstrat că inhibiția sintezei de NO determină o potențare marcată a bronhoconstricției colinergice la cobai *in vitro* (BELVISI M. G., 1991). Anionii superoxid produși de celulele inflamatorii activate, pot duce la o degradare rapidă a NO. Aceasta poate antrena răspunsuri colinergice exagerate, ca în astmul sever acut (BELVISI M. G., 1992). Radicalul NO, foarte reactiv, prezent în aerul expirat la om, iepure și cobai are un rol bine determinat ca relaxant al mușchiului neted bronșic. Efectele NO_x s-au evidențiat în menținerea tonusului bazal al căilor respiratorii atât ca mediator al bronhodilatației NANCi, cât și ca modulator al bronhoconstricției (DRAZEN J. M., 1995).

BIBLIOGRAFIE

1. BARNES P. J., *Neuropeptides as modulators of airway function. In AAS 31: Meidators in Airway Hyperreactivity.* Eds.: Nijkamp E. et al. Birkhauser Verlag, Basel, 1990: 175–196.

2. BARNES P. J., *Modulation of neurotransmission in airways.* Physiological Reviews, 1992a, 72: 699–729.

3. BARNES P. J., *Neural mechanisms in asthma.* British Medical Bulletin, 1992b, 48: 149–168.

4. MARK J. K., BARANIUK J. N., BARNES P.J., *Localization of muscarinic receptor subtypes mRNAs in human lung.* Am. J. Resp. Cell Mol. Biol., 1992, 7: 344–348.

5. BARNES P. J., *Respiratory Pharmacology.* In Text Book of Respiratory Medicine, ed. II, Eds. Murrary J. F. and Nadel M., W. B. Saunders Company, vol. I, 1994, 251–270.

6. BARNES P. J., *What is the role of nerves in chronic asthma and symptoms.* Resp. Crit. Care Med., suppl. 1996, 153: S5–S8.

7. IANSEN L.J., DANIEL E. E., *Pre- and postjunctional muscarinic receptors in canine bronchi.* Am. J. Physiol. 3, 1990, 259: L304–314.

8. BARNES N., PIPER P. J., *The actions of leukotrienes in human lung in vitro and in vivo. In The Leukotrienes: Their Biological Significance.* Raven Press, New York, 1986, 199–212.

9. MICHOUD M. C., FAJAC I., FROSSARD N., *Hyperreactivite bronchique: facteurs neurogenes.* Rev. Mal. Resp., 1994, 11: 131–140.

10. KRIFF S., LONNQVIST F. et al. *Tissue distribution ao beta3-adrenergic receptor mRNA in man.* J. Clin. Invest., 1993, 91: 344–349.

11. BARNES P. J., *Adrenergic regulation of airway function.* In The Airways Neural Control in Health and Disease, vol. 33, Eds. Kaliner M. A., Barnes P. J., Marcel Dekker Inc., New York, 1988: 57–85.

12. BARNES P.J., *Beta-andrenergic receptors and their regulation.* Am. J. Resp. Crit. Care Med., 1995, 152: 838–860.

13. BLACK J. L., *Role of Airway Smooth Muscle.* Resp. and Crit. Care Med., 1996, 153: S2–S4.

14. ANDERSSON R. G., GRUNDSTROM N., *The excitatory noncholinergic, nonadrenergic nervous system of the guinea pig airways.* Eur. J. Resp. Dis., 1983, Suppl. 131: 141–157.

15. FROSSARD N., ADVENIER C., *Tachykinis receptors and the airways.* Life Sci., 1991, 49: 1941–1953.

16. DRAZEN J.M., GASTON B., SHORE S., *Chemical regulation of pulmonary airway tone.* Annu. Rev. Physiol., 1995, 57: 151–170.

17. PERRETTI F., MANZINI S., *Activation of capsaicin-sensitive sensory fibres modulates PAF-induced bronchial hyperresponsivenes in anesthetized guinea pigs.* Am. Rev. Respir. Dis., 1993, 148: 927–931.

18. ELLIS J. L., UNDEM B. J., *Role of peptidoleukotrienes in capsaicin-sensitive sensory fibre-mediated responses in guinea pig airways.* J. Physiol., 1991, 436: 469–484.

19. BORSON D. B., *Roles of neutral endopeptidase in airways.* Am. J. Physiol., 1991, 260: L212–L225.

20. CHEUNG D., TIMMERS M. C., et al., *Neutral endopeptidase activity and airway hyperresponsivenes to neurokinin A in asthmatic subjects in vivo.* Am. Rev. Respir. Dis., 1993, 148: 1467–1473.

21. BARNES P. J., BARANIUK J. N., BELVISI M. G., *Neuropeptides in the respiratory tract.* Am. Rev. Respir. Dis., 1991, 144: 1187–1198.

22. NADEL J. A., *Neutral endopeptidase mudulates neurogenic in Eur,* Resp. J., 1991, 4: 745–754.

23. BELVISI M. G., STRETTON D. et al., *Inhibitory NANC nerves in human tracheal smooth muscle: a quest for the neurotransmitter.* J. Appl. Physiol., 1992, 73: 2505–2510.

24. PALMER J. B., CUSS F. M. C., BARNES P. J., *VIP and PHM and their role in nonadrenergic inhibitory response in isolated hyman airways.* J. Appl. Physiol., 1986, 61: 1322–1328.

25. GASTON B., DRAZEN J. M., et al., *Relaxation of human bronchial muscle by S-nitrosothiols in vitro.* J. Pharmacol. Exp. Ther., 1994, 268: 978–994.

26. JANSSEN A., DRAZEN J. M., et al., *The relaxant properties in guinea pig airways of S-nitrosothiols.* J. Pharmacol. Exp. Ther., 1992, 261: 154–160.

27. BELVISI M. G., STTRETON D., BARNES P. J., *Nitric oxide modulates cholinergic neurotransmission in guinea pig tracheal smooth muscle.* Eur. J. Pharmacol., 1991, 198: 219–221.

4. ROLUL CELULARITĂȚII CĂILOR AERIFERE ÎN MODULAREA BRONHOMOTRICITĂȚII

Reactivitatea musculaturii netede bronhice este dependentă de mediul intern local și de proprietățile fizico-chimice și compoziția acestuia. Plasma interstițială este dependentă de irigația sanguină, dar și de totalitatea celulelor care beneficiază de schimburi în teritoriul respectiv. În acest sens, se cunoaște relația existentă între metabolism și funcție la nivel tisular, o parte din substanțele rezultate din metabolism participând la reglarea propriei activități (HAULICĂ I., 1983; SCHNEIDER F., 1977). Este vorba de hormoni locali, factori autacoizi, care, alături de mediatorii chimici și hormonii circulanți, intervin în reglarea excitabilității și modularea tonusului bronhomotor atât direct, cât și indirect, prin influențarea metabolismului celular. Din punct de vedere chimic, natura lor este foarte variată: aminică, polipeptidică, lipidică, purinică și, nu în ultimul rând, radicali liberi ai oxigenului și oxidul de azot. Acțiunea lor este atât individuală, cât și, în special, prin însumare, interesând constelația factorilor modulatori locali ce se supraadaugă fondului reglator asigurat de inervație. La acestea se adaugă enzimele elaborate de celule sau rezultate din distrugerea lor, care activează sau inactivează substanțe biologic active.

Constelația autacoidă locală apare profund modificată în condițiile inflamației. Inflamația, generată de factorii poluanți, microbieni sau imuno-alergici, induce eliberarea, din celulele afectate, a mediatorilor ce amplifică procesul.

Celularitatea perimusculară are un rol deosebit în modularea tonusului bronhomotor, cu participare în special a epiteliului bronșic, endoteliului vascular, cât și a mastocitelor, neutrofilelor, eozinofilelor, bazofilelor, macrofagelor și trombocitelor. Implicarea acestora în procesele inflamatorii bronhopulmonare stă la baza hiperreactivității bronșice (SCHNEIDER F., 1996).

4.1. Celulele epiteliale

Epiteliul traheo-bronșic de tip pseudostratificat cilindric, columnar, ar avea 13 varietăți celulare, clasificate după RENNARD S. I. (1994), în următoarele tipuri morfo-funcționale.



1. celule bazale, nediferenţiate, extrem de active în inflamaţie;

2. celule superficiale nesecretorii, divizate în ciliate şi celule în perie *(brush cells)*. Acestea din urmă au rol de resorbţie a lichidului luminal, din rândul cărora se detaşează unele abordate de terminaţii nervoase senzitive (celule senzoare?) şi altele cu caracteristici imature (de înlocuire);

3. celule superficiale secretorii, unele seroase, altele mucoase *(goblet cells)*. La nivelul bronhiolelor terminale se întâlneşte o variantă a celulelor mucoase, celulele Clara, cu o secreţie de tip lipoproteic (surfactant);

4. celule neurosecretorii (APUD), celule K (Kultchitski), conţinând granule de catecolamine şi serotonină.

Tradiţional, epiteliul căilor aerifere a fost privit ca o barieră fizică, jucând un rol important în clearance-ul mucociliar şi prevenind intrarea unor agenţi nocivi în ţesuturile bronşice subiacente. Date recente sugerează însă că această barieră joacă un rol cheie nu doar în patogenia fenomenelor inflamatorii caracteristice unor afecţiuni ce se manifestă prin obstrucţie bronşică, ci şi în etiologia acestora. Epiteliul bronşic funcţionează ca barieră fizică, dar şi ca un ţesut metabolic activ, care, în condiţii normale, menţine homeostazia chimică necesară integrităţii funcţionale a căilor aerifere.

Funcţia de barieră fizico-chimică a epiteliului respirator a generat ipoteza că procesele inflamatorii intraluminale pot fi separate de parenchimul pulmonar.

Alterarea integrităţii epiteliale de către diverse substanţe nocive compromite funcţia de barieră a epiteliului şi creşte sensibilitatea parenchimului faţă de mediatorii eliberaţi în procesele inflamatorii intraluminale. Se realizează astfel un dezechilibru al homeostaziei locale, ce are drept consecinţă apariţia unor afecţiuni ale căilor aerifere şi posibilitatea creşterii responsivităţii musculaturii bronşice (DAVIS R. J., 1992).

Interesant de semnalat este şi rolul acestei „bariere" în modularea efectului unor agenţi terapeutici. S-a constatat experimental că pentru substanţele hidrosolubile epiteliul poate funcţiona ca un obstacol mecanic, capabil să reducă difuziunea unor agenţi, atât de tip bronhoconstrictor, cât şi de tip bronhodilatator. Faţă de drogurile liposolubile, epiteliul, prin lipidele membranare pe care le conţine, poate acţiona de o manieră care să permită menţinerea unor concentraţii locale ridicate (YANG J., 1991). Majoritatea studiilor efectuate în alterări epiteliale au avut ca obiect investigarea perturbărilor produse în astmul bronşic, modificările tonusului musculaturii netede traheo-bronşice fiind unanim recunoscute în această afecţiune.

Examenul histologic post-mortem al căilor aerifere la bolnavii astmatici arată prezenţa în lumenul acestora a unui exsudat de natură predominant inflamatorie, bogat în eozinofile. Exsudatul conţine, de asemenea, celule epiteliale desprinse de pe suprafaţa căilor aerifere, precum şi o redusă cantitate de mucus. Epiteliul apare parţial regenerat, prin metaplazia celulelor mucoase şi scuamoase. S-a evidenţiat,



de asemenea, îngroșarea peretelui căilor aerifere, determinată de îngroșarea membranei bazale, depozitului de colagen IV și de exsudatul inflamator bogat de la nivelul submucoasei, precum și depozitele ce se formează aici în relație cu procesul de reparație epitelială. Apare și o îngroșare a stratului muscular neted, ca rezultat al unor procese de hiperplazie și hipertrofie (HOGG J. C., 1993).

Există o strânsă legătură între fragilizarea epiteliului bronșic, descuamarea epitelială, edemul mucoasei și perturbarea mecanismelor de adeziune celulară la astmatici (LAITINEN A., 1994). Consecința funcțională clară a descuamării epiteliale este reprezentată de inducerea unei hiperreactivități bronșice. Diverși autori evidențiază o corelație netă între numărul de celule epiteliale recoltate prin lavajul bronhoalveolar și reactivitatea bronhomotorie. Gradul de hiperreactivitate apare, de asemenea, proporțional cu lungimea membranei bazale denudate.

Alterarea barierei fizico-chimice epiteliale poate determina, deci, implicarea subsecventă a mai multor mecanisme patogenetice (DAVIES R. J., 1992):

a) creșterea permeabilității față de alergeni, iritanți, poluanți și alți agenți nocivi;

b) modificări ale osmolarității fluidului endobronșic;

c) expunerea liberă a terminațiilor nervoase senzitive intraepiteliale și potențarea reflexului de axon;

d) producerea unor mediatori inflamatori derivați din celulele epiteliale stimulate;

e) scăderea producției unor mediatori așa-zis „protectori" (cu efecte antiinflamatoare și bronhorelaxante) la nivelul epiteliului alterat;

f) implicarea celulelor epiteliale în modularea răspunsului imun local, prin producția de citokine inflamatorii specifice și prin modificarea expresiei unor molecule de adeziune.

Implicarea epiteliului în mecanismele nervoase de reglare a tonusului bronhomotor sunt azi de necontestat. Clasic, reglarea calibrului căilor aerifere depinde de echilibrul realizat între stimularea sistemului nervos autonom simpatic, cu efect bronhodilaltator și activarea sistemului nervos autonom parasimpatic, cu efect bronhoconstrictor. Ambele căi nervoase se distribuie în căile aerifere la nivelul fibrelor musculare netede, de asemenea, al glandelor submucoase și a sistemului vascular local. Există, până în prezent, puține dovezi despre efectul stimulării adrenergice și/sau colinergice asupra epiteliului bronșic, ceea ce sugerează slaba sa implicare în aceste mecanisme.

Mult mai bine documentată este intervenția epiteliului asupra efectelor mediației de tip nonadrenergic noncolinergic (NANC), ca și rolul receptorilor „iritanți" intraepiteliali. Terminațiile nervoase superficiale din căile aerifere sunt situate la mai puțin de un micrometru față de lumenul bronșic, foarte bine plasate pentru a putea răspunde prin bronhoconstricție reflexă la toate tipurile de iritanți endobronșici. Epiteliul traheo-bronșic are o inervație senzitivă ce-și are originea atât în ganglionii



jugular și nodos ai vagului, cât și în ganglionii senzitivi de pe rădăcina posterioară a nervilor spinali toracali superiori. Aceste fibre conțin substanța P, ce se eliberează sub acțiunea unor iritanți – inducând hipersecreție de mucus și de clor.

Leziunile epiteliale induc o intensă stimulare a terminațiilor nervoase, iar eliberarea sporită de substanță P va determina și o reacție inflamatorie, cât și bronhoconstricție. Aceste fenomene se vor amplifica printr-un reflex vagal.

Secvența fenomenelor ar fi următoarea:

a) stimularea receptorilor nociceptivi, cu întreținerea eliberării neuropeptidelor;

b) răspunsul imediat la substanța P prin:

– vasodilatație și creșterea permeabilității capilare;

– stimularea mastocitelor cu eliberarea de histamină, leucotriene și alți mediatori cu efect bronhoconstrictor;

c) histamina și leucotrienele eliberate amplifică inflamația inițială;

d) histamina și leucotriena B4 amplifică și eliberarea substanței P, prin stimularea directă a terminațiilor nervoase aferente.

Mediatorii chimici eliberați de la nivelul sistemului NANC excitator (NANCe) pot induce bronhoconstricție susținută, acționând direct la nivelul fibrelor musculare netede. Substanțele implicate în această mediație sunt toate de tip peptidic și includ: tahikininele, peptidul derivat din gena calcitoninei (CGRP), peptidul de eliberare al gastrinei (GRP). Tahikininele, care includ substanța P (SP), neurokinina A (NKA), neurokinina B (NKB) și altele, prezintă receptori specifici (NK1 pentru SP și NK2 pentru NKA), a căror prezență a fost detectată la nivelul fibrelor musculare netede, la nivel vascular ganglionar, dar și la nivel epitelial (MARTLING C. R., 1987).

Interesant de semnalat este interrelația funcțională între tahikinine, în special SP și celula epitelială. Pe de o parte, SP induce eliberarea unor mediatori și a speciilor reactive ale oxigenului din celulele inflamatorii, care au efect toxic asupra epiteliului, determinând descuamarea acestuia și amplificarea efectului stimulilor bronhoconstrictori. Pe de altă parte, tahikininele sunt degradate în căile aerifere de către enzima de conversie a angiotensinei, localizată la nivelul endoteliului vascular, precum și de endopeptidaza neutră, localizată la nivelul epiteliului bronșic.

Endopeptidaza neutră (NEP) este o enzimă ectomembranară, o metalopeptidază cu zinc, având afinitate recunoscută pentru o mare varietate de substraturi: bradikinina, SP, NKA, VIP, – factorul natriuretic atrial Met- și Leu-encefalina, bombesina și peptide bombesin-like. Enzima clivează aceste peptide la nivelul situsului amino-terminal, hidrofobic, determinând, în majoritatea cazurilor, pierderea activității biologice a acestora. NEP intervine în modularea inflamației neurogene și a tonusului bronhomotor. În astmul bronșic există o strânsă legătură între gradul obstrucției căilor aerifere și scăderea activității enzimei. Reglarea activității NEP la nivelul căilor aerifere se realizează printr-o mare varietate de mecanisme. Printre factorii inhibitori menționăm fumul de țigară și inflamația, iar ca factori stimulatori – glucocorticoizii.

Epiteliul bronşic intervine şi în modularea proceselor inflamatorii din căile aerifere. Infiltratul inflamator prezent la nivel epitelial, conduce la eliberarea a o serie de mediatori chimici, ce produc reacţii locale importante, amplificate pe cale neurală. Celulele implicate interacţionează complex cu celula epitelială, realizând în final un cerc vicios prin care se întreţine procesul inflamator local şi secundar şi starea de hiperreactivitate a fibrelor musculare netede din pereţii bronşici.

În cadrul acestor interrelaţii, epiteliul poate fi considerat o celulă ţintă a celorlalţi efectori ai inflamaţiei. Odată stimulată, celula epitelială eliberează o serie de factori chemotactici solubili, pentru neutrofile, eozinofile, monocite şi limfocite. Principalele substanţe eliberate de celula epitelială, mai ales ca reacţie de răspuns la „stimulare", sunt citokinele şi factorii de creştere, endotelinele, metaboliţii acidului arahidonic, monoxidul de azot. Stimulii care declanşează eliberarea acestora pot fi specifici pentru fiecare tip de mediator eliberat, dar, în principal, pot fi reprezentaţi de orice agenţi intraluminali (oxidanţi, iritanţi, virusuri etc.), precum şi de produşii eliberaţi de celelalte celule din infiltratul inflamator, în special diferite categorii de citokine.

Celula epitelială este capabilă să producă Interleukina 6 (IL6), Interleukina 8 (IL8), Factorul de stimulare a coloniilor granulo-monocitare (GMCSF), Factorul de necroză tumorală alfa (TNFα), Factorul de creştere derivat din plachete (PDGF), Factorul 1 de creştere de tip insulină (IGF1) şi RANTES *(Released from Activated Normal T Cells)*. Producţia de citokine poate fi indusă prin:

a) diverşi factori de agresiune intraluminali, incluzând oxidanţi, mediatori inflamatori sau iritanţi. S-a demonstrat că poluantul atmosferic NO_2, a cărui prezenţă a fost asociată cu creşterea responsivităţii bronşice, induce sinteza de GMCSF, IL8 şi TNFα în culturi de celule epiteliale (DEVALIA J. L., 1993);

b) infecţiile virale pot, de asemenea, să crească expresia citokinelor în celulele epiteliale. Virusul Influenza A se asociază cu creşterea expresiei IL8 (CHOI A. M. K., 1992);

c) Citokine eliberate de alte celule inflamatorii, fie în jurul căilor aerifere, fie chiar în lumenul acestora. La nivelul căilor aerifere macrofagele activate printr-un mecanism IgE-dependent declanşează prima undă de citokine, de tip IL1, TNFα, IL6. Acestea vor acţiona asupra unor receptori specifici prezenţi pe celula epitelială şi vor declanşa astfel eliberarea celui de-al doilea set de citokine, cu amplificarea reacţiei inflamatorii.

Celulele epiteliale traheo-bronşice mai produc şi alte substanţe biologic active, dintre care menţionăm: endotelina (ET-1), stimulator al secreţiei de mucus şi clor, al mişcării ciliare şi al contracţiei musculaturii netede; oxidul nitric şi Prostaglandina E2 (PGE-2) cu efect bronhodilatator. PGE-2 are mai multe efecte benefice pentru epiteliul bronşic, ca optimizator al transportului hidro-ionic şi, nu în ultimul rând, citoprotector şi antiinflamator.



Experimental, pe culturi de celule epiteliale stimulate cu PAF, s-a evidenţiat sinteza de 15–HETE *(acid hidroxieicosatetranoic)*, mediator al reacţiei astmatice de fază tardivă. De asemenea epiteliul, prin metabolizarea LTA4 produs de neutrofile, formează LTB4, un foarte puternic agent chemotactic (HENDERSON W. R., 1994).

Organizarea şi menţinerea arhitecturii tisulare se realizează cu participarea moleculelor de adeziune de pe suprafaţa celulară. Celulele epiteliale exprimă pe suprafaţa lor integrine α şi β, care funcţionează ca receptori pentru componenta matriceală (colagen, fibronectină, laminină), cu rol în aderarea de membrana bazală. Numărul lor creşte în urma stimulării, fiind implicate în migrarea leucocitelor şi în localizarea lor în focarul inflamator epitelial, cu participarea ICAM–1 (molecule de adeziune intercelulară). Focarul inflamator celular, cu acumularea leucocitelor şi sub efectul proteinelor cationice şi mai ales a Proteinei Bazice Majore (MBP), contribuie la alterarea epitelială şi creşterea responsivităţii bronşice.

Pierderea sau alterarea epiteliului poate induce hiperreactivitate bronşică prin trei mecanisme principale:

a) creşterea permeabilităţii barierei epiteliale, cu sporirea concentraţiei agoniştilor;

b) diminuarea barierei metabolice de inactivare a unor substanţe biologic active;

c) scăderea eliberării de NEP.

Epiteliul supus alterării de către variaţi agenţi (virali, toxice inhalatorii, inflamaţia etc.) are şi o considerabilă capacitate de autoreparare, prin creşterea proliferării celulelor bazale şi secretorii. Răspunsul proliferativ coexistă cu eliberarea unor factori autocrini de creştere. Producţia excesivă a acestora poate stimua proliferarea fibroblastelor şi a musculaturii netede, cu îngroşarea consecutivă a peretului bronşic şi limitarea funcţională a căilor aerifere.

4.2. Celulele endoteliului vascular

Stratul unicelular care tapetează vasele sanguine are un rol deosebit în homeostazia sanguină, cardiovasculară dar şi bronho-pulmonară. Celulele endoteliate sunt deosebit de reactive, graţie proprietăţilor paracrine, cât şi implicării directe în reacţia inflamatorie (SCHNEIDER F., 1996; SISKA I., 1996).

Cuplul EDRF *(Factor relaxant derivat din endoteliu)* – Endotelină are un rol major în menţinerea tonusului vascular, la care se adaugă eicosanoizii, precum şi alte substanţe biologic active generate de activarea celulelor endoteliale, care, în totalitatea lor, acţionează loco-regional, implicându-se şi în mecanismele patogenice ale unor afecţiuni bronho-pulmonare. EDRF, identificat de Moncada în 1987, ca fiind oxiodul nitric (NO), este un radical liber extrem de reactiv cu o multitudine



de funcții reglatoare. La nivel pulmonar este implicat în mediația sistemului NANC bronho-dilatator, reglează direct tonusul bronșic, intervine în reglarea fluxului sanguin și, în plus, este produs în procesul inflamației.

NO-sintaza endotelială prezintă în proporție de 36% omologie structurală cu citocromul P450. Forma constitutivă Ca-Calmodulin dependentă este implicată în procesele fiziologice de semnalizare celulară, după acționarea receptorilor endoteliali de către acetilcolină, bradikinină, serotonină, stres mecanic. Forma inductibilă, sub influența unor citokine, endotoxine, produse bacteriene, intervine în procesele asociate cu inflamația (BILLIAR T. R., 1995; KUO P. C., 1995). Efectul direct relaxant al NO asupra musculaturii netede bronșice se realizează în urma interacțiunii cu Fe^{2+} hemic din guanilat ciclaza solubilă și generare de GMPc (MONCADA S., 1991).

Endotelina (ET), polipeptid cu 21 aminoacizi, a fost pusă în evidență în endoteliul vaselor pulmonare, epiteliul căilor aeriene, glandelor submucoase bronșice și la nivelul mușchiului neted bronșic, dar sursa poate fi mastocitară și macrofagică (MARIASSY A. T.; 1996; OHKUBO K., 1994). La nivelul epiteliului căilor aerifere ET stimulează secreția de clor și de mucus, mișcările ciliare, mitogeneza și eliberarea de eicosanoizi (RUBANYI G. M., 1994).

La nivelul musculaturii netede traheo-bronșice ET–1 are un puternic efect contractil, mediat de receptorii de tip ET_B, cu implicarea proteinei G și formarea de IP_3 și DAG (KNOTT P. G., 1995; McKAY K. O., 1996).

În lavajul bronho-alveolar (BAL) al persoanelor sănătoase, concentrația de ET este de 0,06±0,02 pg/ml (față de nivelul plasmatic, unde este de 0,3–3 pg/ml). La bolnavii cu *status astmaticus* și bronșită cronică, ET din BAL este de 4–6 ori mai mare. Tratamentul cu corticosteroizi și agoniști β-adrenergici, reduce la jumătate acest exces (BATISTINI B., 1993; D'ORLEANS-JUSTE P., 1996).

Dintre produșii endoteliului vascular cu acțiune asupra mușchiului neted traheo-bronșic, mai semnalăm, pe de o parte, TxA_2, LTC_4 și PAF, bronhoconstrictori și pe de altă parte, PGI_2 – bronhodilatatoare.

4.3. Mastocitul

Căile respiratorii prezintă o însemnată populație mastocitară, în special în zona bazală a epiteliului bronșic și în pereții alveolari. Se apreciază că plămânii conțin 10^6 mastocite/g.

Asocierea cu epiteliul, venulele post-capilare, filetele nervoase și musculatura netedă ilustrează importanța lui în homeostazia căilor aerifere. În epiteliul traheo-bronșic, ca și în parenchimul pulmonar, domină mastocite care conțin triptaza (MC_T), pe când în țesutul conjunctiv, alături de glandele submucoase și vasele sanguine domină mastocite care conțin pe lângă triptază, chimază și carboxipeptidaza A (MC_{TC}).

Triptaza este componentul proteic major al granulelor din mastocit, cu multiple implicaţii proteolitice, cum sunt activarea complementului, clivarea fibrinogenului, generarea de kinine. Atât triptaza, cât şi chimaza pot degrada neuropeptide, în special VIP. În timp ce triptaza intervine în creşterea contractilităţii musculaturii netede, chimaza potenţiază secreţia de mucus şi mitoza fibroblaştilor.

Degranularea este momentul esenţial al acţiunii mastocitare. Aceasta are loc cu o intensitate deosebită în urma legării IgE de receptorul membranar în prezenţa antigenului, care induce sinteza de IP_3 şi DAG (mediat de proteina Gp şi GMPc). Iniţial degranularea este calciu-independentă, ca apoi, influxul de calciu să accelereze procesul.

Mediatorii mastocitari eliberaţi în special în urma degranulării sunt reprezentanţi de Histamină, Serotonină, LTC_4, LTD_4, LTE_4. Factorul chemotactic al eozinofilelor şi al neutrofilelor (ECF-A şi NCF-A), arilsulfataza, PAF, bradikinina, sunt răspunzători pentru bronhospasm, vasoconstricţie, creşterea permeabilităţii vasculare, secreţia de mucus şi chemotactism.

Mastocitele, dintre care un rol deosebit revine celor intraluminale, reprezintă un important factor în patogeneza astmului. Aprecierea numărului de mastocite activate în BAL la bolnavii cu astm bronşic este un criteriu de diagnostic etiopatogenic. Numărul cel mai mare – 2% din populaţia celulară se consemnează în astmul alergic (RAICA M., 1995).

Citokinele mastocitare IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, TNFα influenţează direct influxul, persistenţa şi activitatea celulelor inflamatorii, mai ales a eozinofilelor şi bazofilelor (BITTELMAN B. D., 1994). Activitatea enzimatică mastocitară potenţează evenimentele inflamatorii.

La atopici sau în alte forme de astm alergic, inhalarea de antigen specific generează lansare de mediatori mastocitari, producând răspunsul astmatic imediat. În răspunsul astmatic tardiv şi ultratardiv reacţia mastocitară este exacerbată de citokinele limfocitelor T-CD4, prin IL-3, IL-4, IL-5, IL-10, GM-CSF (Factor stimulator al coloniilor granulocitare şi macrofagice), cât şi de C3a, C5a, SP şi peptide bazice.

4.4. Fibroblastul

Fibroblastul (DICULESCU I., 1987) este principala celulă a ţesutului conjunctiv, cu o mare capacitate mitotică şi cu un imens echipament enzimatic. Are rol în sinteza şi secreţia proteinelor extracelulare conjunctive. Este hormonosensibil, cu un mare potenţial de regenerare şi modelare. Mitoza este potenţată de chimaza mastocitară. Componentele matriceale, cum sunt fibronectina, colagenul, laminina, peptide derivate din elastină, acţionează chemotactic, îl mobilizează, potenţând funcţia de remodelare a substanţei fundamentale şi fibrilare conjunctive. Celulele epiteliale au un rol modulator asupra răspunsului fibroblastic.

Procesul inflamator induce o accentuare a sintezei glicozaminoglicanilor și colagenului. În inflamația cronică asociată astmului se constată fibroză subepitelială cu fibrocite – celule în repaus funcțional.

4.5. Granulocitele

Granulocitele, uneori cele mai reprezentative leucocite din circulație, migrează în afara vasului sanguin, formând cele mai numeroase celule alohtone ale peretelui și lumenului căilor aerifere. Au rol în apărarea, reglarea și medierea răspunsurilor inflamatorii, imunitare și a tonusului bronhomotor.

4.5.1. Neutrofilul se concretizează prin capacitatea de locomoție, de aderare, fagocitoză și efect bactericid. Apare ca un rezident normal al căilor aerifere mari, unde reprezintă 50% din celulele lavajului bronșic, în timp ce în lavajul bronhoalveolar este cu mult mai redus (WARDLAW A. J., 1988).

Prezența neutrofilelor în BAL și în peretele bronșic la astmatici, cât și capacitatea lor de a altera structura și funcțiile căilor respiratorii, sugerează un posibil rol în patogeneza astmului (DIAZ P., 1984; MARTIN R. J., 1988). Rolul lor în reacția de hipersensibilitate poate fi direct – inflamator, prin producția anionilor superoxid, cât și indirect – prin recrutarea altor celule inflamatorii. Dar, cu toate că mediatorii inflamației eliberați de neutrofil (prostaglandine, tromboxani, LTB_4, PAF) sunt implicați în hiperresponsivitatea bronșică, rolul patogenic în astm este controversat. Această afirmație este întărită de cercetările lui Mohanna F., care pledează pentru inhibarea funcțiilor neutrofilelor de către IgE. În schimb, în serul astmaticilor sensibilizați la alergen sau la stimuli nespecifici, KAY B. A., 1992 a evidențiat factori chemotactici ai anafilaxiei pentru neutrofile; iar inflamația căilor aerifere pledează cert pentru participarea neutrofilelor în astm.

4.5.2. Bazofilul are receptori de mare afinitate pentru IgE și granulații conținând histamina. Nu se întâlnește în țesutul conjunctiv, decât în inflamații alergice. Deși are unele caracteristici comune cu mastocitul, nu este implicat în procesele bronhopulmonare conexe astmului.

4.5.3. Eozinofilul este o celulă efectoare a astmului, în special în răspunsul tardiv. Astmul este definit ca „bronșită cronică descuamativă eozinofilică". Recrutarea și acumularea eozinofilelor în căile aerifere se realizează grație factorilor chemotactici C5a, HETE, LTB_4, PAF. Prezintă receptori specifici pentru IgE, IgA, complement, interleukine, histamină, factori chemotactici și exprimă o seamă de molecule de adeziune. La astmatici apar subpopulații celulare hipodense, expresia activării. Activarea se realizează de către produsele celulelor inflamatorii (PAF, LTB_4), imunoglobuline (IgA, IgG, IgE), SP, C5a, citokine de

proveniență limfocite T, celule endoteliale și monocite. În acest proces rolul crucial revine PAF-ului.

Eozinofilele hipodense degranulate și vacuolate sunt responsabile de eliberarea proteinelor cationice (MBP, ECP și EPO) cu efecte citotoxice, de destrucție epitelială și eliberatoare de histamină din mastocite. La acestea se adaugă efectul destructiv prin mecanism oxidativ (specii reactive ale oxigenului). De asemenea, se consemnează mediatori neoformați, proinflamatori, PAF, LTC_4, PGE, TxA_2, potențatori ai bronhoconstricției, secreției de mucus și hiperpermeabilizanți ai vaselor. Eozinofilele activate mai sintetizează IL-1, IL-3, IL-5, GM-CSF și TGF. KAY B. A., 1992, consideră că MBP ar fi implicată în disfuncția receptorilor M_2 și în accentuarea bronhoconstricției mediată vagal.

O serie de medicamente antiasmatice au acțiune asupra eozinofilului. Astfel: • corticosteroizii inhibă chemotactismul și aderența de endoteliul vascular • agoniștii β-adrenergici inhibă activarea • cromoglicatul reduce numărul eozinofilelor bronșice • ketotifenul inhibă recrutarea eozinofilelor în căile respiratorii indusă de PAF.

Dar eozinofilul are și rol protector, participând la degradarea histaminei, inactivarea leucotrienelor și a PAF-ului. Alterarea balanței dintre rolul protector și rolul inductor ar putea constitui punctul central al patogenezei astmului.

4.6. Limfocitele

În peretele căilor respiratorii se consemnează constant prezența limfocitelor, în special în bronhiole. Ambele tipuri, atât limfocitele B (LB) cât și limfocitele T (LT), sunt prezente, cu mențiunea că intraepitelial predomină LT și mai ales subtipul citotoxic/supresor (LT-CD8). Numărul lor nu se modifică în stadiul precoce al astmului alergic, dar crește la 12–16 ore de la contactul cu alergenul. În infiltratul inflamator din astmul cronic se remarcă un număr sporit, dar cu un deficit relativ de LT-CD8 (FOLKERST G., 1991).

Se cunoaște rolul proinflamator al subtipului LT helper (LT-CD4) legat de eliberarea limfokinelor, în special al IL-2, IL-3, IL-5, IL-6 și IL-10 (CORRIGAN C. J., 1992). De asemenea, LT-CD4 activată, secretă IL-4 (elaborată și de mastocite), implicată în schimbarea izotipului LB, care în acest fel dobândește funcția de a secreta IgE (PĂUNESCU V., 1996).

În funcție de limfokinele secretate, se disting mai multe tipuri de LT-CD4, dintre care prezintă interes deosebit LTh2 – proinflamator și inductor al sintezei de IgE și LTh1, care prin IFNγ determină supresia proliferării LB și a sintezei de IgE (PENE I., 1988). De asemenea, limfocitele bolnavilor de astm, atât alergic, cât și non-alergic, produc și lansează HRF (Histamine Releasing Factor).

Studii de flow-citometrie relevă creşterea proporţiei de LT-CD4 activate, din sângele periferic al bolnavilor cu astm bronşic sever, aceste limfocite exprimând receptorii IL-2, HLA-DR şi VLA-1 (Very Late Antigen). Acelaşi aspect se consemnează şi în fluidul bronho-alveolar al astmaticilor atopici la 48 de ore după expunere la alergen. Efectul benefic al corticoterapiei în astm se explică prin acţiunea asupra LT-CD4 (SCHELEIMER R. P., 1989).

În concluzie, limfocitele participă indirect în patogeneza astmului, inclusiv în hiperresponsivitatea bronşică, prin acţiune proinflamatorie, producţie de IgE şi HRF.

4.7. Sistemul monocito-macrofagic

Monocitele circulă în sânge aproximativ 12–32 de ore, cel mult 70 de ore, după care trec în ţesuturi. În ţesuturi se diferenţiază în macrofage, întâlnindu-se în plămân în interstiţiul conjunctiv şi în alveole, în peretele întregului arbore traheo-bronşic şi în lumenul acestuia. Au o durată de viaţă ce variază de la câteva săptămâni la câteva luni sau ani. Prin capacitatea de fagocitoză au un rol protector major faţă de particulele care ajung pe cale aeriană, cât şi al microorganismelor din aer şi plămân.

Recunosc şi endocitează molecule non-self şi ca celule prezentatoare de antigen sunt elemente cheie al răspunsului imun. Participă la realizarea răspunsului imun şi prin sinteza de monokine. Conţin peste 50 de receptori pentru imunoglobuline, histamină, diverşi derivaţi icosanoizi, interleukine, glucocorticoizi etc. Are o importantă funcţie secretoare, producând peste 100 de substanţe cu rol inflamator, antiinflamator, imunoreglator (FELS A. O. S., 1986).

Activarea macrofagelor de către antigene, IgE, limfokinele limfocitului T, se manifestă prin numeroase pseudopode şi vezicule pinocitate, intensificarea metabolismului, producţia crescută de specii reactive ale oxigenului etc. Activarea IgE dependentă induce eliberarea de mediatori proinflamatori şi chemotactici, spasmogeni bronhiolari şi ai vaselor pulmonare. Balanţa dintre factorii proinflamatori (tromboxani, prostaglandine, leucotriene, IL-1, IL-6, TNF, specii reactive ale oxigenului etc.) şi antiinflamatori (factorul de transformare TGF-β1, IL-10) are rol în modularea evolutivă a inflamaţiei.

Elaborează şi produse cu acţiune asupra ţesutului conjunctiv – colagenază, elastază, lizozim, factori activatori şi inhibitori ai plasminei.

Sunt principalele celule efectoare implicate în rezistenţa antiinfecţioasă, dar şi în iniţierea accesului astmatic, cât şi în hipersensibilitatea de tip întârziat (FULLER R. W., 1992).

În astmul bronşic, sub acţiunea glucocorticoizilor se reduce lansarea de către monocit a substanţelor proinflamatorii (BARNES P. S., 1990).

4.8. Trombocitul

Faptul că trombocitele intacte se găsesc foarte rar în țesuturi, nu exclude posibilitatea ca activate intravascular, generând mediatori inflamatori, să acționeze extravascular. Printre mediatorii trombocitari un rol important revine PAF-ului prin efectul bronhoconstrictor deosebit de puternic.

BIBLIOGRAFIE

1. HAULICĂ I., PETRESCU G., BRĂNIȘTEANU D., S. R. A., *Hormonii tisulari.* Ed. „Junimea", Iași, 1983.

2. SCHNEIDER F., *Introducere în fiziologia clinică.* Ed. „Facla" Timișoara, 1977.

3. SCHNEIDER F., BUNU C., TĂNĂSIE G., MEDERLE C., PĂUNESCU V., *Human bronchial responsiveness. Local mechanisms of modulation.* Fiziologia–Physiology, 1996; 11:7–12.

4. RENNARD I. S., ROMBERGER J. D., SISSON H. J., ESSEN G. S., RUBINSTEIN I., ROBBINS A. R., SPURZEM R. J., *Airway epithelial cells: functional roles in airway disease.* Am. J. Respir. Crit. Care. Med., 1994; 150:S27–S30.

5. DAVIES R. J., DEVALIA L. J., *Epithelial cells.* British Medical Bulletin, Asthma, 1992; 48:85–96.

6. YANG J., MITZNER W., HIRSHMAN C., *Role of the epithelium in airway smooth muscle response to relaxant agonists.* J. Appl. Physiol., 1991; 71(4):1434–1440.

7. HOGG J. C., *Pathology of asthma.* J. Allergy Clin. Immunol., 1993; 92:1–5

8. LAITINEN A., LAITINEN L., *Airway morphology: epithelium/basement membrane.* Am J.Respir. Crit. Care. Med., 1994; 150:S14-S17.

9. MARTLING C. R., THEODORSSON-NORHEIM E., LUNDBERG J. M., *Occurrence and effects of multiple tachykinins:substance P, neurokinin A and neuropeptide K in human lower airways.* Life Sci., 1987; 40: 1633–1643.

10. DEVALIA L. J., RUSZNAK C., SAPSFORD R. J., CALDERON M., DAVIES R. J., *Nitrogen dioxide (NO_2)- induced permeability and synthesis of inflamatory citokines by human bronchial epithelial cell monolayer in vitro,* Am. J. Allergy Clin. Immunol., 1993, 91:328

11. CHOI A.M. K., JACOBY D. B., *Influenza A infection induces interleukin 8 gene expressio in human airway epithelial cells,* FEEBS, 1992, 9:309–327

12. HENDERSON W. R., MARTIN T.R., MERRITT T. L., RANGHI G., *Leukotriene B4 is the predominant neutropil chemotatic produced by human macrophager,* Am. Rev. Resp. Dis., 1994,131, A37

13. SCHNEIDER F., SISKA I., TĂNASIE G., CRÂSNIC D., *Rolul factorilor derivați din endoteliu în modularea tonusului bronhomotor.* Timișoara Medicală, 1996, 41/3–4: 5–12.

14. SISKA I., CRÂSNIC D., SCHNEIDER F., *Endothelins: sources, receptors and roles in the respiratory system, possible implications in some respiratory disorders.* Fiziologia-Physiology, 1996, 6/4 (12): 3–9.

15. BILLIAR T.R., *Nitric oxide. Novel biology with clinical relevance,* Ann. Surg., 1995, 221, 4:339–349

16. KUO P. C., SCHROEDER R. A., *The emerging multifaceted rolees of nitric oxid,* Ann. Surg., 1995, 221, 3:220–235

17. MONCADA S., PALMER R. M. J., HIGGS E.A., *Nitric oxide: Physiology, pathophysiology and pharmacology.* Pharmacol. Rev. 1991, 43: 109–142.

18. MARIASSY A. T., GLASSBERG M. K., SALATHE M., *S. A. Endothelial and epithelial sources of endothelin-1 in sheep bronchi.* Am. J. Physiol., 1996; 270: L54–61.

19. OHKUBO K., OHNISHI M., YOKOSHIMA K., TAKIZAWA R., OKUDA M., KALMER M. A., *Study of endothelin; distribution in the airway and release from epithelial cells.* Arerugi (Japan), 1994; 43,3:448–457.

20. RUBANYI G.M., POLIKOFF M.A., *Endothelins: molecular biology, biochemistry, pharmacology, physiology and pathophysiology,* Pharmacological reviewes, 1994, 46, 3:325–394

21. KNOTT P. G., D'APRILE A. C., HENRY P. J. et al., *Receptors for endothelin-1 in asthmatic human peripheral lung.* Br.J. Pharmacol, 1995; 114, 1:1–3.

22. McKAY K. O., ARMOUR C. L., and BLACK J. L., *Endothelin receptors and activity differ in human, dog and rabbit lung.* Am. J. Physiol., 1996; 270,14:L37–L43.

23. BATTISTINI B., D'ORLEANS-JUSTE P., SIROIS P., *Endothelins: circulating plasma levels and presence in other biologic fluids.* Lab. Investig., 1993; vol. 68, 6:600–617.

24. D'ORLEANS-JUSTE P., GRATTON J. P., LEDUC R., et al., *L'endotheline; pharmacologie, cardiovasculaire et considerations physiopathologiques.* Medicine/Science, 1996; 12;563–574.

25. RAICA M., *Sistemul mastocitar.* Ed. Mirton, Timişoara, 1995.

26. BITTELMAN B. D., CASALE B. T., *Allergic models and citokines.* Am. J. Respir. Care. Med., 1994; 150:S72–S76.

27. DICULESCU I., ONICESCU D., *Histologie medicală,* Ed. Med., Bucureşti, 1987.

28. WARDLAW A. J., DUNNETTE S., GLEICH G. J., COLLINS J. V., KAY A. B., *Eosinophils and mast cells in bronchoalveolar lavage in mild asthma: relationship to bronchical hyperreactivity.* Am. Rev. Respir. Dis., 1988, 137: 62–69.

29. DIAZ P., GALLEGUILLONS F. R., GONZALES M. C., PANTIN C., KAY A. B., *Bronchoalveolar lavage in asthma: the effect of DSCG on leukocyte counts, immunoglobulins and complement.* J. Allergy Clin. Immunol. 1984, 74:41–48.

30. MARTIN R. J., CICCUTO L. C., BALLARD R. D., SZEFLER S. J., *Airway inflammation in nocturnal asthma.* Am. Rev. Respir. Dis. 1988, 137:284.

31. KAY A. B., CORRIGAN C.J., *Eosinophils and neutrophils.* British Medical Bulletin, 1992, 48/1: 51–64.

32. FOLKERTS G., *Virus-induced Airway Hyperresponsiveness.* Utrecht Universitet, 1991.

33. CORRIGAN C. J., KAY A. B., *Role of T-limphocytes and lymphokines.* British Medical Bulletin, 1992, 48, 1:72–84.

34. PĂUNESCU V., TATU C., ŞTEFĂNESCU D., MEDREA D., *Imunologie. Concepte fundamentale şi aplicative.* Ed. Helicon Timişoara, 1996.

35. PENE I., ROUSSET F., BRIERE F., et al., *IgE production by normal human lymphocytes is induced by interleukin-4 and suppressed by interferons γ and α and prostaglandin E_2. Proc.* Natl. Acad. Sci. USA 1988, 85: 6880–6884.

36. SCHLEIMER R. P., CLAMAN H. N., ORONSKY A., *Antyinflammatory steroid action: basic and clinical aspects.* Academic Press, London 1989.

37. FELS A. O. S., CHON Z. A., *The alveolar macrophage.* J. Appl. Physiol.,1986, 60: 353–369.

38. FULLER R. W., *Macrophages. Asthma.* British Medical Bulletin, 1992, 48, 1: 65–71.

39. BARNES P. J., *Reactive oxygen species and airway inflammation.* Free Rad. Biol. Med., 1990, 9: 235–243.

5. INFLAMAȚIA ȘI BRONHOMOTRICITATEA

Inflamația căilor aerifere inferioare, alături de cele superioare, reprezintă una dintre cele mai frecvente suferințe ale organismului. O incidență mare se consemnează pentru infecțiile episodice, bronșiolita tipică a copilului și bronșita bacteriană și virotică la vârstnici. Un loc aparte revine bronhopneumopatiilor cronice cu manifestări de tip obstructiv, dar disfuncții obstructive cronice se întâlnesc și în fibroza chistică, bronșiectazie, hipogammaglobulinemie, bisinoză, deficitul de α_1-antitripsină, injurii chimice etc. Toate acestea se diferențiază net de astmul bronșic, o afectare bronșică complexă care se caracterizează printr-o hiperreactivitate la diverși factori, în urma cărora survine un sindrom obstructiv în general reversibil (PRIDE N. B., 1989) (SCHNEIDER F., 1996).

Astmul bronșic, indiferent de etiologie, are ca manifestare comună inflamația, în care sunt implicați atât factori imunitari cât și componente nervoase autonome. Astfel fibrele nervoase aferente – senzitive din căile respiratorii, în cadrul reflexului de axon, interacționează cu celulele sistemului imun și cu miocitele vasculare și bronșice, formând o unitate cu rol în detectarea și protejarea față de diverse noxe – declanșând așa-zisa inflamație neurogenă.

Etiologic astmul bronșic prezintă trei forme majore: astmul extrinsec sau alergic, astmul intrinsec sau infecțios și astmul mixt (JEFFERY P.K., 1992). Indiferent de cauză, astmul se manifestă ca o boală inflamatorie (CHUNG K.F., 1992); un persistent proces inflamator submucosal al căilor respiratorii ce se concretizează prin hiperresponsivitate bronșică și obstrucție a căilor respiratorii. Hiperresponsivitatea bronșică se referă la o exagerată sensivitate a căilor respiratorii, la o varietate de stimuli ce induc o deteriorare a parametrilor funcționali pulmonari, măsurabili prin PEFR și FEV1. Stimulii pot fi farmacologici (metacolină, histamină, leucotriene) sau provocări prin praf, efort, aer rece etc.

Injuria tisulară, indiferent de natura ei, determină eliberarea unor mari varietăți de substanțe biologic active, ce determină o serie de modificări secundare. Totalitatea acestora constituie inflamația (ale cărei semne cardinale au fost definite

odinioară de Celsus) caracterizată, azi, prin următoarele fenomene: vasodilatație, creșterea permeabilității capilare, coagularea lichidului interstițial, migrarea tisulară a elementelor sanguine și balonare celulară (THOMSON N.C., 1992).

Inițierea răspunsului inflamator debutează cu o vasoconstricție neurogenă, dublată de acțiunea LTC_4, LTD_4 și LTE_4 eliberate de mastocite și bazofile. Urmează vasodilatație, hiperpermeabilizare vasculară și edem, produse de histamina mastocitară și bazofilică, serotonina trombocitară și de bradikinina sistemului Hageman, la care se adaugă PGE_2 și PGD_2 monocitare, macrofagice și mastocitare, PGI_2 și NO endoteliale. Creșterea permeabilității este indusă și de acțiunea directă a agenților chimici exogeni, cât și de specii reactive ale oxigenului exogene și endogene.

Speciile reactive ale oxigenului au un rol patogenic major, participând direct la suferința, fragilizarea și distrugerea epitelială, cât și la hipersecreția de mucus; și indirect, potențând inițierea cascadei acidului arahidonic, lansarea de PAF și histamină, în relație cu hiperreactivitatea musculaturii bronșice.

Cercetările experimentale ale lui C.J.A. DOELMAN (1991) pe trahee de șobolan evidențiază, sub acțiunea apei oxigenate, o imbalanță dintre β-adrenoreceptori și receptorii colinergici, ceea ce facilitează răspunsul spastic la acțiunea agoniștilor colinergici. Acest aspect a fost constatat și în cercetările noastre (MEDERLE C., SCHNEIDER F., 1995). Dezepitelizarea atenuează efectul relaxant muscular la agoniști β-adrenergici. DOELMAN evidențiază de asemenea o hiperresponsivitate la serotonină în urma tratării cu Cumen-hidroperoxid (un hidroperoxid lipofilic), cât și inducerea contracției musculaturii traheale la tratarea cu hipoclorit, efect blocat prin pretratare cu N-acetil-L-cisteină.

Sistemul complement intervine de asemenea, calea clasică fiind activată de agregate IgA, endotoxine și lipopolizaharide. Activarea antigen-dependentă a celulelor B și T determină sinteza de IL-1, TNF, care la rândul lor induc elaborarea și a IL-6, IL-8, GM-CSF și a altor citokine proinflamatorii (DEJICA D., 1997).

Urmează faza celulară a inflamației sub acțiunea chemotactică, un rol important revenind IL-8 endotelială, cu atragerea leucocitelor ș,i în special, a neutrofilelor, care aderă de celulele endoteliale și traversează peretele vascular, induse de integrine, molecule ICAM și selectine. Cascada de adeziune leucocit-endoteliu și secvențele migrării până în lumenul bronșic au următoarele etape:

a) adeziune inițială (rolling-ul leucocitar);

b) adeziunea fermă și migrarea transendotelială;

c) migrarea leucocitelor prin matricea extracelulară;

d) contactul leucocit-membrană bazală și epiteliu bronșic, migrarea transepitelială și dezvoltarea unui proces de apărare în lumen.

În cursul diapedezei migratorii, granulocitele interacționează cu celulele endoteliale și epiteliale în producerea de mediatori locali, care induc exacerbarea

(upregulate) responsivităţii musculaturii netede adiacente şi edem luminal, ce augmentează efectul stimulilor constrictori ai musculaturii bronşice (LEFF A. R., 1991). În unele cazuri, sub acţiunea citotoxicităţii locale, se constată şi destrucţie epitelială, rezultând descuamarea epitelială. În cazul astmului bronşic, se consemnează bronşită descuamativă eozinofilică (WARDLAW A. S., 1994).

Activarea fagocitelor decurge în două etape (KISHIMOTO T. K., 1991):

1. Pregătirea *(priming)*, potenţată de TNF, GM-CSF, G-CSF, constând din accelerarea sintezei de enzime şi a unor specii reactive ale oxigenului.

2. Declanşarea *(triggering)*, marcată de degranularea şi de eliberarea enzimelor şi a speciilor reactive ale oxigenului, cu acţiune distructivă asupra microorganismelor şi a mediului tisular local.

Citokinele joacă un important rol în desfăşurarea procesului inflamator din astmul bronşic. Constelaţia de citokine participă la inducerea, persistenţa, dar şi la limitarea inflamaţiei. Efect proinflamator au IL-1, IL-2, IL3, IL-5, IL-6, IL-8. Reacţia inflamatorie este limitată de citokine antiinflamatorii TGF-β_1, IL-4, IL-10, IL-13, cât şi de receptorii solubili care leagă citokinele proinflamatorii anihilând acţiunea lor.

Deci citokinele, după modul în care participă la reacţia inflamatorie, sunt potenţiatoare şi anihilatoare. Un interes deosebit prezintă chemokinele sau intercrinele din grupul citokinelor proinflamatorii. Acestea sunt elaborate sub acţiunea lipopolizaharidelor microbiene cât şi al trombinei, de către monocite, limfocite, fibroblaşti, celule endoteliale şi celule musculare netede. Intervin în procesele bronhoconstrictoare, în special, prin elaborarea de RANTES (Regulated upon Activation Normal T Expressed and Secreted), un factor chemoatractant şi degranulator pentru eozinofile, atractor şi eliberator de histamină din bazofile.

Pe implicarea citokinelor în patogeneza astmului se bazează şi anumite acţiuni terapeutice. Astfel, corticosteroizii suprimă sinteza citokinelor de către celulele inflamatorii, ciclosporina inhibă sinteza citokinelor de către limfocitele T, teofilina, în concentraţie plasmatică ridicată, prin inhibarea fosfodiesterazei, induce persistenţa AMP ciclic suprimând lansarea de citokine din limfocite T (BARNES P. J., 1994).

În modularea răspunsului inflamator intervin şi trombocitele, pe de o parte, prin potenţarea agregării, chemotactismului şi recrutării neutrofilelor şi, pe de altă parte, prin intervenţia în procesele reparatorii.

Inflamaţia are manifestări destructive, de apărare şi de reparare, ponderea şi evoluţia acestora ţin de o serie de factori conecşi locali şi generali, exogeni şi endogeni.

În inflamaţie sunt antrenate direct sau indirect componentele specifice sistemului imun şi celule prezentatoare de antigen (PĂUNESCU V., 1996).

Imunitatea are două faţete, una protectivă şi una hiperreactivă, uneori greu de diferenţiat şi în acest caz doar evoluţia procesului permite concluzia finală.

Inflamaţie cu reacţie imună hiperreactivă este şi astmul bronşic cu componentă alergică, care este o reacţie de hipersensibilitate de tip I.

Poate fi extrinsec – tipic alergic, având uneori un caracter sezonier, pe un fond familial, sau intrinsec, infecţios, survenind în general în sezonul rece, mai ales sub acţiunea aerului rece prezent. În multe cazuri se îmbină cele două forme (TINKELMAN D. G., 1987).

Un loc aparte are astmul profesional, în parte generat de fondul alergic, sub acţiunea părului de animale, detergenţi cu conţinut de enzime, prafuri (de casă, dar şi de minerale). În unele cazuri se consemnează lansarea imunitară de histamină la lucrătorii din brutărie, industria farmaceutică, cosmetică, prelucrarea cauciucului, lemnului şi a maselor plastice. În această din urmă categorie intră şi bisinoza din industria de prelucrare a bumbacului, inului şi cânepei (SZEGEDI G., 1990).

Este deseori asociată cu atopia, în special astmul extrinsec, legat de o producţie crescută de IgE (reagine). În mod normal se găseşte în cantitate medie de 3,3 μg/kg, producţia zilnică este de 2,3 μg/kg – semnificând că 2/3 sunt înlocuite zilnic. Cea mai mare parte a IgE se găseşte sub formă liberă, circulantă, doar 1% fiind fixată tisular, mai ales perivascular. Are originea în plasmocite, existente şi în căile bronşice. Este citofil, având capacitatea de a se fixa în special pe mastocite, combinarea IgE şi un antigen specific la membrana mastocitară produce degranularea acestuia, cu eliberare de produşi implicaţi în inflamaţie şi bronhoconstricţie. IgE se fixează şi pe bazofile, eozinofile, trombocite, macrofage tisulare, potenţând posibilitatea activării lor.

Criza astmatică poate fi imediată – cu durată de minute, tardivă cu durată de ore şi prelungită, cu durată de zile. În criza imediată – bronhospasmul, rolul principal revine mastocitului. Prelungirea crizei are loc pe baza mediatorilor lansaţi şi de eozinofile şi monocite, iar amplificarea procesului presupune intrarea în joc a celulelor prezentatoare de antigen şi a limfocitelor T helper. Particularitatea fazei tardive este amplificarea edemului mucoasei cu hiperreactivitatea acesteia şi lansarea de mediatori derivaţi din neutrofile şi monocite. În astmul cronic se consemnează şi o intensificare a distrucţiei epiteliale, hipersecreţie de mucus, hiperreactivitate bronhomotorie, iar infiltratul inflamator este dominat de eozinofile.

Cercetările noastre cu privire la reacţia inflamatorie exprimată de lavajul bronhoalveolar, au fost efectuate flow-citometric cu anticorpi monoclonali specifici CD3 (limfocite T), CD4, (limfocite T helper), CD8 (limfocite T citotoxice), CD19 (limfocite B), CD16/52 (celule NK), HLA-DR (vezi **fig. 5/1**). S-a constatat la pacienţii astmatici, nesupuşi corticoterapiei, pe fondul unei crescute celularităţi, prevalenţa celulelor epiteliale (52%) şi o relativă creştere a eozinofilelor (3–6%) şi limfocitelor

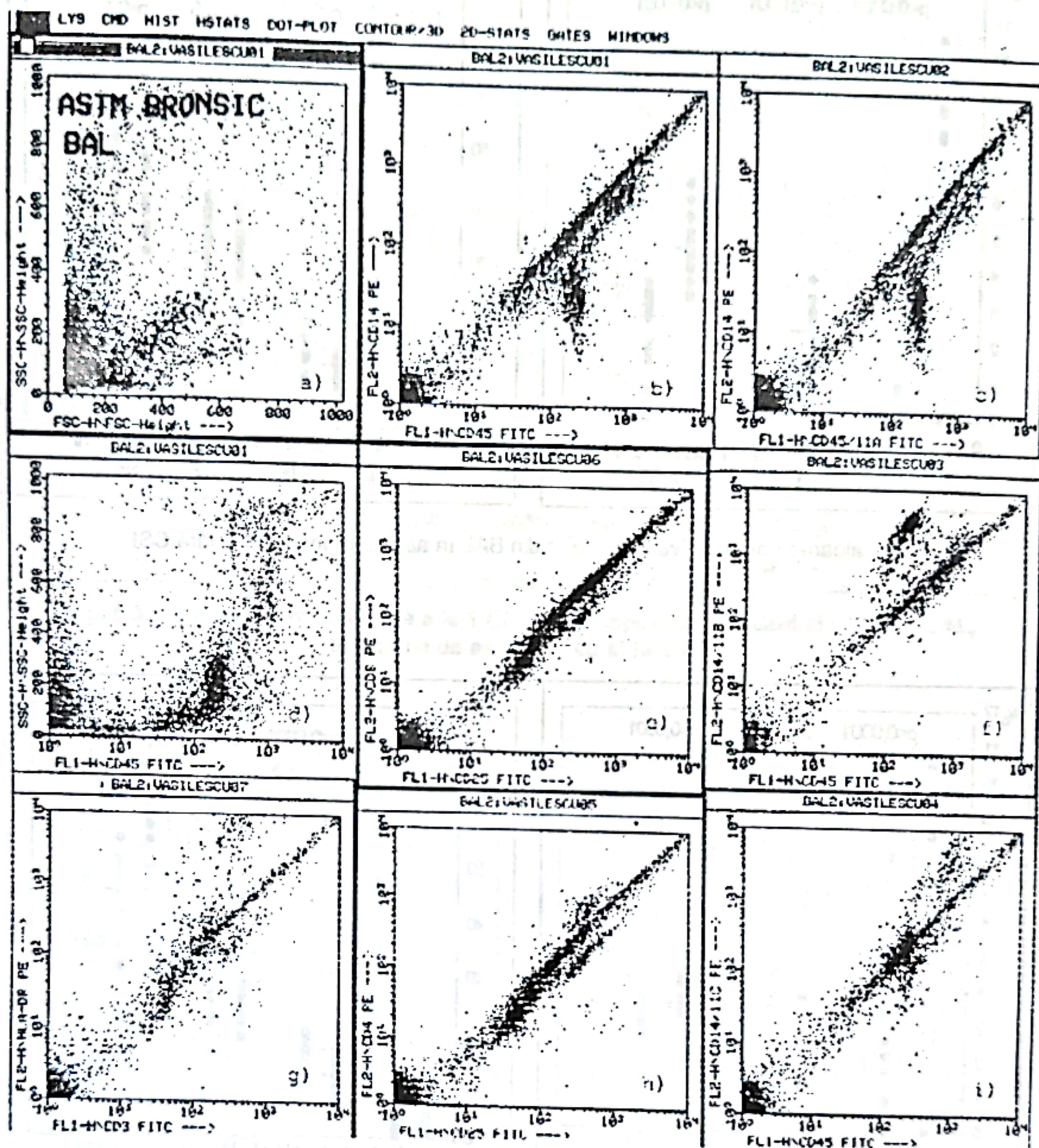
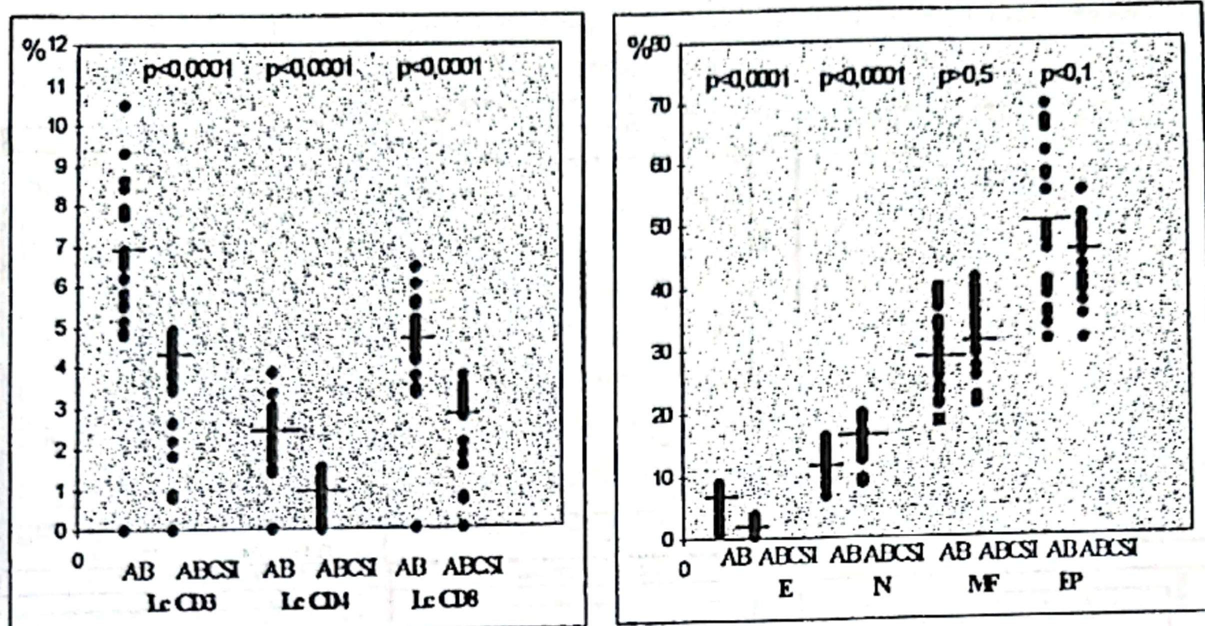
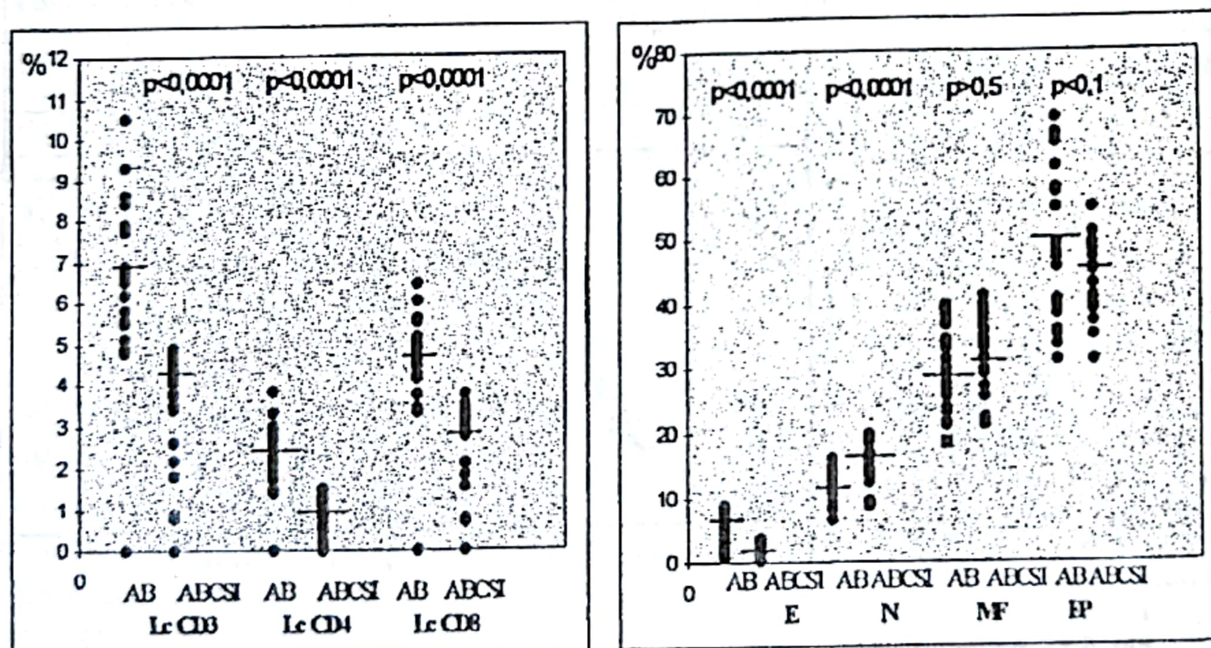


Fig. 5.1 – Aspectul flow citometric al celularității din lichidul de lavaj bronho-alveolar

a) imaginea FSC/SSC (granularitate și dimensiune) a celulelor; b) separarea celulelor pe baza expresiei CD14–CD15; c) expresia CD11A pe orizontală; d) separarea celulelor pe baza granularității și expresiei CD45; e) separarea CD8 (pe verticală) și CD25 (pe orizontală); f) expresia CD11B (pe verticală); g) expresia HLA-DR (pe verticală); h) separarea CD4 (pe verticală) și CD25 (pe orizontală); i) expresia CD11C (pe verticală)



(a) Valoarea comparativă a celulelor din BAL în astmul bronşic, cu şi fără CSI



(b) Valoarea comparativă a celulelor din BAL în BPOC faţă de astmul bronşic (AB) şi valorile normale (N)

Fig. 5.2 – Valoarea comparativă a celulelor din BAL în astmul bronşic faţă de BPOC şi lotul martor

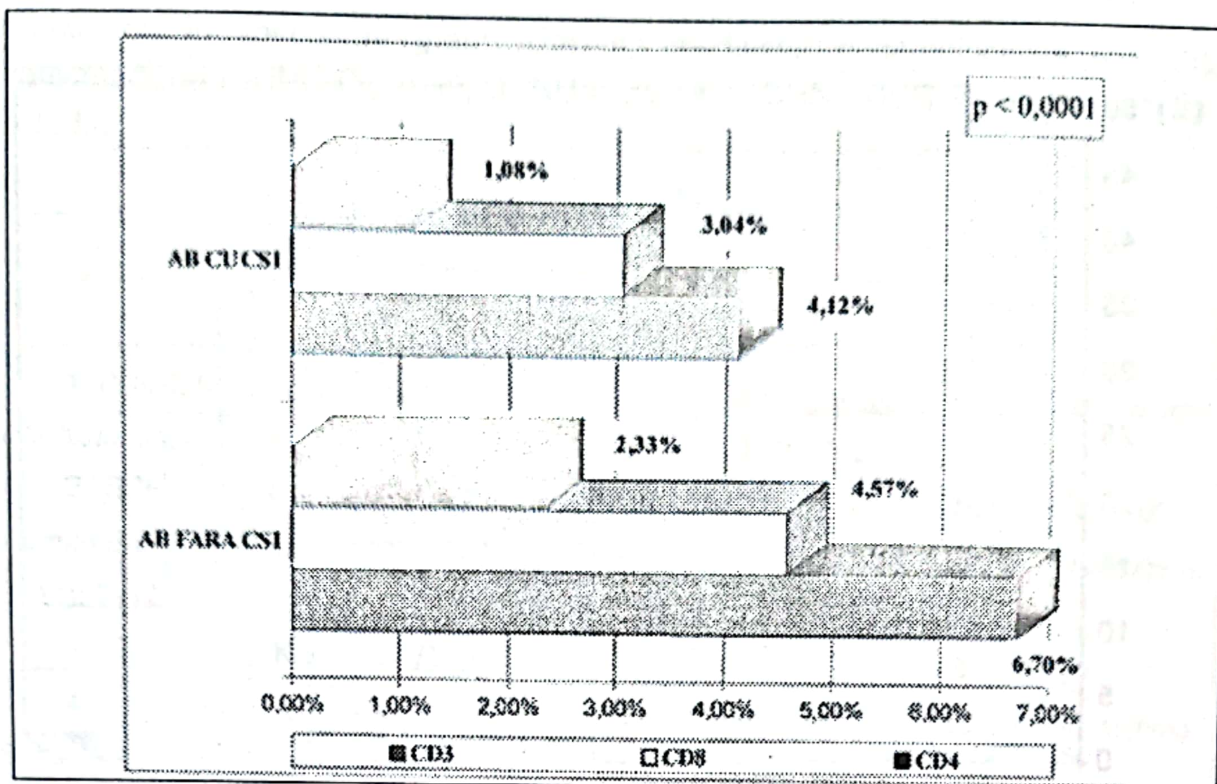


Fig. 5.3. – Repartiţia procentuală a lc T CD3 şi a subpopulaţiilor CD4 şi CD8 din BAL, la loturile de astmatici cu şi fără CSI

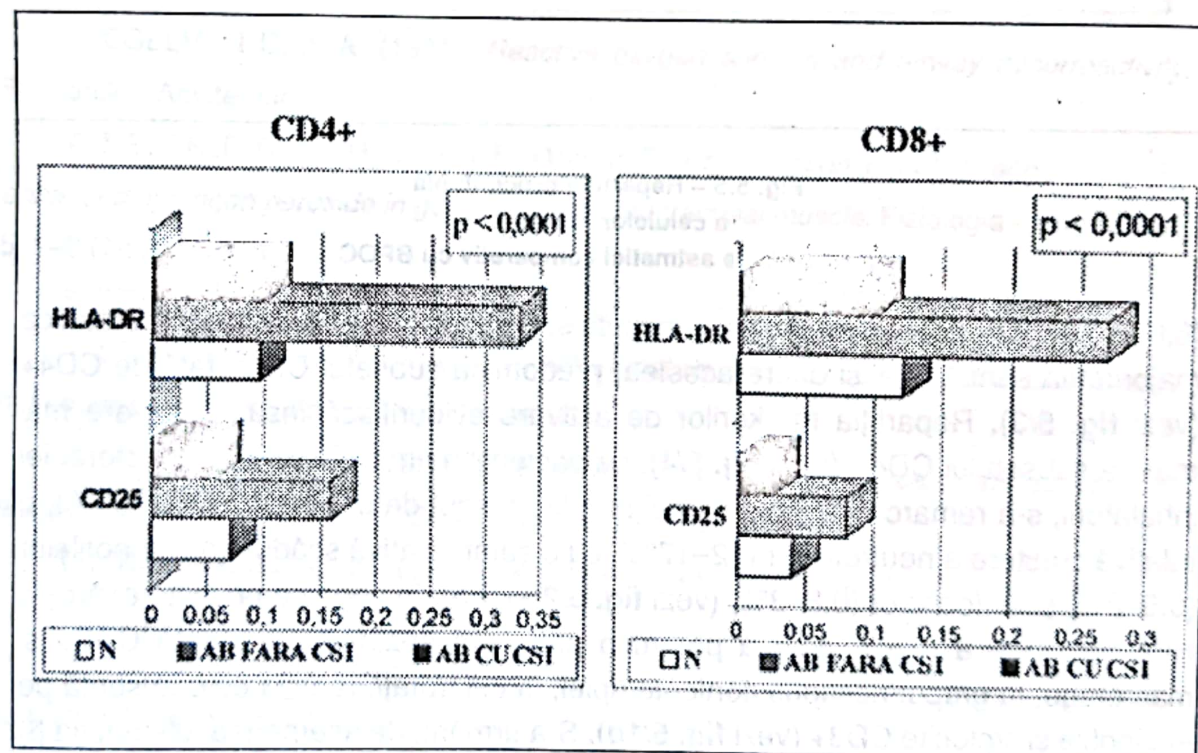


Fig. 5.4 – Repartiţia markerilor CD25 şi HLA-DR pe suprafaţa lc T CD4 şi CD8 din BAL, la loturile de astmatici cu şi fără CSI

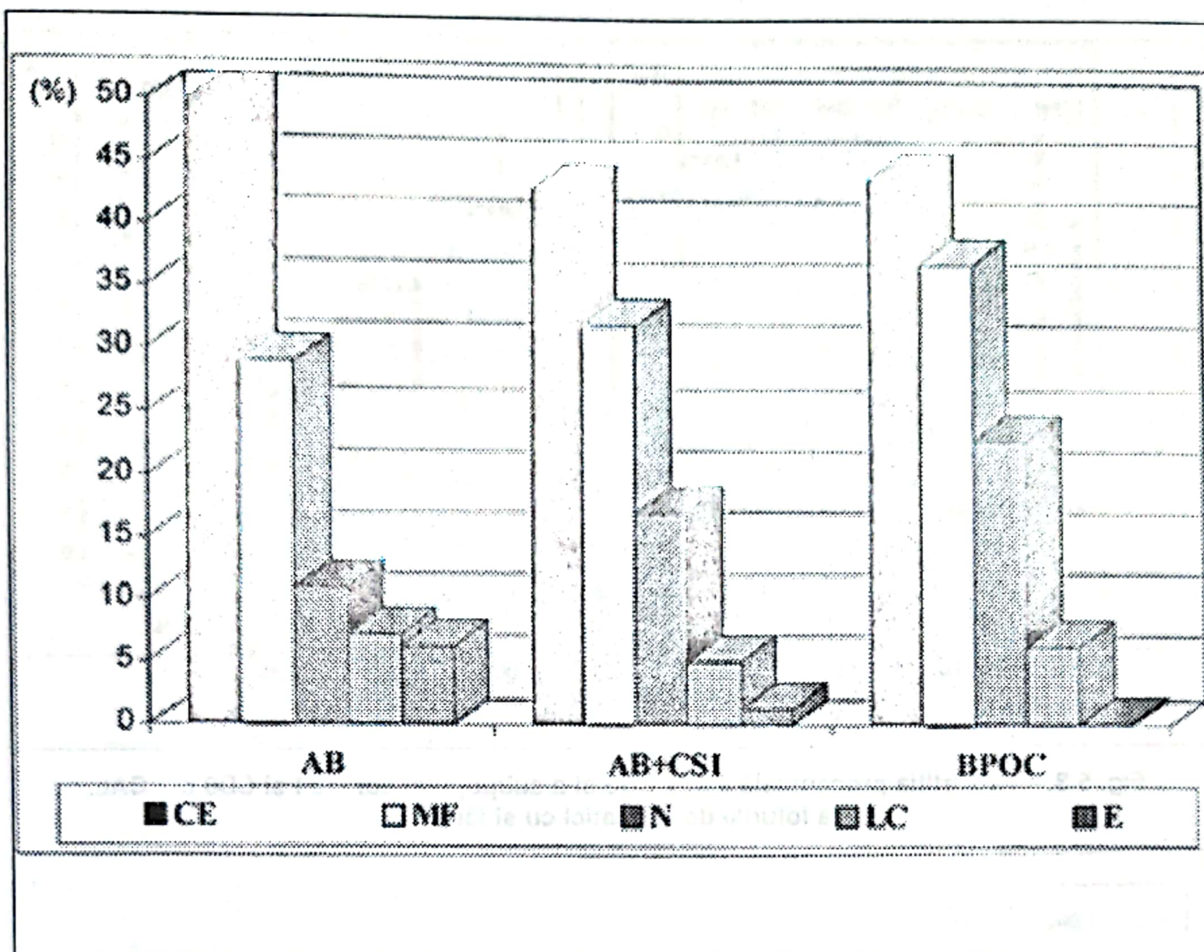


Fig. 5.5 – Repartiția procentuală a celulelor din BAL la loturile de astmatici comparativ cu BPOC

(6,69+/–1,5%) (vezi **fig. 5/2)**. Analizându-se subseturile limfocitare, s-a constatat că majoritatea sunt CD3+ și dintre acestea, predomină subsetul CD8+ față de CD4+ (vezi **fig. 5/3)**. Repartiția markerilor de activare evidențiază însă o activare mai mare a subsetului CD4+ (vezi **fig. 5/4**). La pacienții astmatici supuși corticoterapiei inhalatorii, s-a remarcat pe fondul unui număr crescut de celule epiteliale (55%), o relativă creștere a neutrofilelor (12–17%), cu o semnificativă scădere a eozinofilelor (0,5–2%) și limfocitelor (0,8–3%) (vezi **fig. 5/2 și 5/5)**. În ceea ce privește expresia HLA-DR, care a fost relevantă pentru o parte din eozinofile, limfocite CD3+ și macrofage, la grupul nesupus corticoterapiei, la cei tratați, reacția este absentă pe eozinofile și limfocite CD3+ (vezi **fig. 5/1g)**. S-a urmărit, de asemenea, distribuția β_2 integrinelor de pe suprafața leucocitelor din lavajul bronhoalveolar cu anti-CD11a, -CD11b și -CD11c, constatându-se la pacienții nesupuși corticoterapiei, prezența

markerilor, în special la granulocite, cu modificări nesemnificative în urma corticoterapiei (BUNU C., 1995; BUNU C., 1996; SCHNEIDER F., 1996) (vezi fig. 5/1c,f,i).

BIBLIOGRAFIE

1. PRIDE N. B., VERMEIRE P., ALLEGRA L. (1989) *Diagnostic labels applied to model cas histories of chronic airflow obstruction.* Eur. Respir. J., 2:, 702–709.

2. SCHNEIDER F., BUNU C., TĂNASIE G., MEDERLE C., PĂUNESCU V. (1996): *Human Bronchial responsiveness. Local mechanism of modulation.* Fiziologia-Physiology 6, 3 (11): 7–12.

3. JEFFERY P. K. (1992): *Pathology of asthma.* British Med. Bull. 48:1, 22–39.

4. CHUNG K. F., BARNES P. J. (1992): *Role of inflammatory mediators in asthma.* British Med. Bull. 48:1, 135–148.

5. THOMSON N. C. (1992): *Anti-inflammatory therapies.* British Med. Bull.: 48: 1, 205–220.

6. DOELMAN C. J. A. (1991): *Reactive oxygen species and airway hyperreactivity.* Febodruk – Amsterdam.

7. MEDERLE C., SCHNEIDER F. (1995): *The constriction effect of acetylcoline by enhanced hydrogen peroxide in guinea pig isolated tracheal muscle.* Fiziologia – Physiology, 5, 1–2 (7): 25–27.

8. DEJICA D. (1997): *Tratat de imunologie clinică,* Ed. „Dacia", Cluj-Napoca.

9. LEFF A. R., TERR A. I. (1991): *Inflammation and cell-cell interactions in airway hyperresponsiveness,* Am. J. Phys. 2: 189–207.

10. WARDLAW J. A., SYMAR S. F., WALSH M. G. (1994): *Eosinophil adhesion in alergic inflammation.* J. Allergy. Clinic. Immunol., 94, 1163–1171.

11. KISHIMOTO T. K. (1991): *A dynamic model for neutrophil localization to inflammatory sites.* J. NIH Res. 3: 75–82.

12. BARNES P. J. (1994): *Cytokines as mediators of chronic Asthma.* Am. J. Respir. Crit. Care Med., 150: S42–S49.

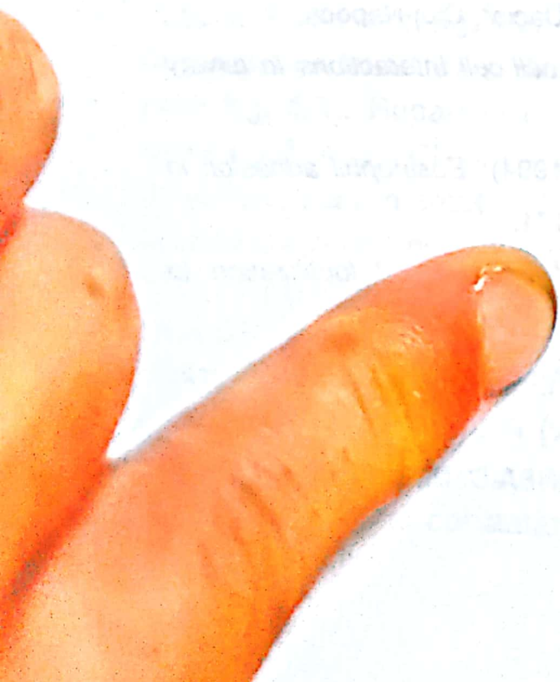
13. PĂUNESCU V., ȚAȚU C. A., STĂNESCU D. I., MEDREA D. P. (1996):*Imunologie, concepte fundamentale și aplicative.* Ed. „Helicon", Timișoara.

14. TINKELMAN D. G., FALLIERS C. J., NASPITZ C. K. (1981): *Childhood Asthma;* Marcel Dekker ink – N. Y., Basel.

15. SZEGEDI G., GERGELY P., SIPKA S., SZEMERE P. (1990): *Klinikai Immunologia.* Medicina – Budapest, 1990.

16. BUNU C., SCHNEIDER F., PĂUNESCU V., TUDORACHE V. M., VANCEA D. (1995): *Effects of corticosteroids on the recruitment and function of bronchoalveolar lavage cells in asthmatic patients.* Fiziologia – Physiology, 5, 1–2, (7): 13–16.

17. BUNU C., SCHNEIDER F., PĂUNESCU V., TUDORACHE V. M., VANCEA D. (1996): *The variation of integrin expression on the leukocytes subpopulations in asthmatic patients.* Fiziologia – Physiology, 6, 1 (9): 8–11.



6. TONUSUL ȘI RESPONSIVITATEA BRONȘICĂ

În condiții fiziologice există o stare de tonus permanent al mușchiului neted bronșic, indus de interacțiunea complexă a diverșilor factori reglatori – inervație vegetativă colinergică, adrenergică, sistemul nonadrenergic noncolinergic (NANC) și factori umorali, reprezentați de mediatori primari și secundari.

Factorii neuro-umorali sistemici și locali pot determina efecte cumulative sau antagonice, în sens bronhodilatator sau constrictor, cu modificarea tonusului căilor aerifere, în condiții normale între anumite limite. În menținerea tonusului căilor aerifere, un rol primordial îl are nervul vag, existând un ritm circadian cu un maxim la ora 5 și un minim după orele 18. Tonusul musculaturii bronșice dependent de vag variază și cu etapa respiratorie – crește în expir și scade în inspir. Inspirul forțat normal induce bronhodilatație. Menținerea unui tonus adecvat optimizează distribuția ventilației în funcție de postură, starea de repaus sau efort, valoarea corespunzătoare a spațiului mort, travaliul muscular ventilator și protecția bronhiilor față de variațiile de tensiune intratoracică.

Perturbarea unuia sau mai multor factori reglatori duce la o reactivitate crescută a căilor respiratorii, denumită în mod generic hiperreactivitate sau hiperresponsivitate bronșică (HRB) și care este, în general, inclusă în definiția astmului bronșic. American Thoracic Society (1987) definește astmul ca un sindrom clinic caracterizat printr-o reacție exagerată a arborelui traheo-bronșic la o varietate de stimuli chimici, farmacologici sau fizici (LOCKHART A., 1994).

Manifestarea fiziopatologică primară a acestei hiperresponsivități este o obstrucție bronșică variabilă, reversibilă, cu creșterea cu peste 15% a volumului expirator maxim pe secundă (VEMS).

În cadrul noțiunii de hiperresponsivitate este necesară disocierea a două aspecte: sensibilitate și reactivitate bronșică, cei doi termeni descriind aspecte diferite ale curbei doză-răspuns la inhalarea de agenți agoniști, ca metacolina, carbacol (agoniști de receptor colinergic) sau histamina (OREHEK J., 1977, citat de LOCKHART A., 1994). Curba doză-efect la acești agenți are o alură sigmoidă, iar

răspunsul maxim este în platou. Doza sau concentrația agonistului ce cauzează o reducere de 20% a VEMS-ului este denumită doza de provocare$_{20}$ sau concentrația$_{20}$ (PD_{20} sau PC_{20}) (FOLKERTS G., 1991).

Hipersensibilitatea traheo-bronșică semnifică un răspuns normal al arborelui traheo-bronșic la agenți bronho-constrictori, dar concentrațiile necesare pentru obținerea răspunsului contractil sunt mai mici, iar doza de provocare$_{20}$ este joasă. Hipersensibilitatea se poate datora unei creșteri a afinității receptorului față de un agonist sau unui acces mai bun al agentului bronhoconstrictor la locul de acțiune, ca în cazul distrucției epiteliului bronșic.

Hiperreactivitatea traheo-bronșică semnifică o creștere a răspunsului bronhoconstrictor mai mare decât în mod curent, la creșterea concentrației agentului constrictor, evidențiată pe curba doză-efect prin accelerarea pantei și se poate datora unei interacțiuni receptor-efector mai intense.

În timp ce subiecții indemni ating un răspuns în platou reproductibil la agenți constrictori la un grad mediu de îngustare a căilor aerifere, pacienții cu hiperresponsivitate traheo-bronșică dezvoltă o obstrucție mai severă, cu atingerea dificilă sau nemăsurabilă în platou (MICHOUD M. C.; 1981; WOOLCOCK A. J., 1984).

Trebuie, de asemenea, făcută distincția între hiperreactivitatea bronșică specifică și nespecifică.

● Hiperreactivitatea specifică constă într-un răspuns bronșic obstructiv la alergeni la care subiecții au fost sensibilizați. Alergenul, de obicei inhalat de către persoane atopice, declanșează criza de astm, în urma eliberării unor mediatori preformați, ca histamina, serotonina, bradikinina, sau a unor mediatori sintetizați de novo, ca leucotriene, prostaglandine și tromboxanul A_2, care duc la constricția căilor aerifere.

● Hiperreactivitatea non-specifică (non-alergică), ce nu reacționează la alergeni, dar obișnuit, atât pacienții cu astm alergic (atopic sau extrinsec) cât și cei cu astm non-alergic (intrinsec), răspund prin bronhospasm la o varietate de stimuli farmacologici, fizici sau chimici, ca histamina, agenți colinergici, prostaglandine, leucotriene, aer rece sau/și uscat, hiperventilația izocapnică, aerosoli hiperosmolari, poluanți atmosferici, efort fizic (TOWNLEI R. G., 1988; BLACK J. L., 1989; LEVIS A. R., 1990; CALDERON E., 1992).

Efectorul principal al hiperreactivității bronșice este reprezentat de musculatura traheo-bronșică. Dar la apariția obstrucției bronșice concură și microcirculația locală, cu creșterea permeabilității vasculare, edemul, exsudatul sau secreția intraluminală și îngroșarea pereților căilor aerifere, procese ce sunt induse, pe lângă mecanismele alergice și non-alergice, și de procese inflamatorii traheo-bronșice. Există, de asemenea, o interacțiune între mecanismele nervoase și cele inflamatorii, încât s-a impus conceptul de „inflamație neurogenă“ aplicat la nivelul căilor aerifere.

În procesele inflamatorii bronho-pulmonare sunt implicate celule rezidente în peretele traheo-bronşic şi celule migrate din sângele periferic. Prin activarea lor se eliberează mediatori primari şi sintetizaţi *de novo*, agenţi chemotactici, interleukine, enzime citotoxice, specii reactive ale oxigenului. Din interacţiunea acestor factori sunt recrutate şi activate alte celule efectoare, distrucţie epitelială, activarea complementului, a kininelor, cu prelungirea în timp şi accentuarea hiperreactivităţii bronşice (VAN OOSTERHOUT A.J. M., 1990; FABER J., 1991).

Manifestări de tip astmatiform apar şi la pacienţii cu bronşite cronice, în urma expunerii la concentraţii crescute de „agenţi iritanţi". Pe lângă elementele comune, trebuie disociate particularităţile de manifestare a HRB la astmatici, comparativ cu subiecţii cu bronşite cronice, manifestări ce sunt datorate caracterului cronic recidivant şi reversibilităţii inflamaţiei din căile respiratorii la astmatici, faţă de modificările ireversibile ale structurii peretelui căilor aerifere din bronşita cronică.

Astfel la astmatici, intensitatea hiperreactivităţii bronşice este variabilă în timp, sub influenţa factorilor de mediu sau a terapiei antiinflamatoare, pe când în cazul bronşitelor, variază puţin în timp, are un grad moderat de manifestare şi se poate atinge un platou la testele de provocare.

6.1. Rolul sistemului nervos autonom în hiperreactivitatea bronşică

Sistemul nervos autonom deţine un rol principal în modularea tonusului bronşic, cu participarea:

– sistemului parasimpatic, arborele traheo-bronşic fiind bogat inervat de nervul vag, cu efect bronhoconstrictor;

– sistemul simpatic, care acţionează mai ales indirect, având rol inhibitor la nivel ganglionar şi postganglionar parasimpatic (prin receptori β şi α_2), reducând transmisia colinergică, cu reducerea tonusului bronhomotor;

– sistemul nervos noncolinergic nonadrenergic, cu o componentă inhibitoare şi una excitatoare.

Sistemul nervos autonom intervine şi în controlul debitului sanguin, a permeabilităţii vasculare, a volumului de secreţie, în modularea eliberării de mediatori de către mastocite (BARNES P. J., 1990 a).

În hiperreactivitatea bronşică implicaţiile mecanismelor neurogenice, mult discutate, sunt complexe, actualmente atribuindu-se un rol mult mai important interacţiunii dintre neurotransmiţători şi mediatorii inflamatori, decât unei alterări a sistemului nervos autonom.

6.1.1. Rolul sistemului nervos colinergic

Inervaţia parasimpatică colinergică reprezintă cel mai important sistem nervos bronhoconstrictor, responsabil şi de secreţia de mucus şi vasodilataţie bronşică (BARNES P. J., 1992 a).



Un răspuns exagerat al bronşiilor la inhalarea de agonişti muscarinici ai acetilcolinei, carbacol şi metacolină, a fost observat la pacienţii astmatici şi mai puţin marcat la cei cu BPOC, sau la subiecţii non-atopici după infecţii virale ale căilor respiratorii (MICHOUD M. C., 1994).

Deşi multe studii au arătat că în astm pare improbabilă o anomalie primară a sistemului colinergic, se ia totuşi în considerare o creştere a neurotransmisiei ganglionare prin acţiunea mediatorilor inflamatori eliberaţi în căile aerifere (BARNES P. J., 1990 a). Astfel, pot fi implicaţi receptorii muscarinici M_1, localizaţi în ganglionii parasimpatici, cu rol facilitator în transmisia parasimpatică (BARNES P. J., 1992 a, 1993).

Administrarea unui antagonist M_1 selectiv – pirenzepina – inhibă reflexul colinergic indus de expunerea la dioxid de sulf la astmatici, considerându-se că la aceştia receptorii M_1 sunt mai sensibili (LAMMERS J. W., 1989). Se incriminează, de asemenea, o anomalie a receptorilor M_2, denumiţi şi autoreceptori. Situaţi presinaptic, au efect inhibitor în transmisia colinergică.

Disfuncţionalitatea lor este sugerată de unele observaţii:

– pilocarpina, agonist al receptorilor M_2, este capabilă să inhibe o bronhoconstricţie reflexă la subiectul normal, dar nu şi la cel astmatic;

– astmaticul este susceptibil, contrar subiectului normal, să facă o bronhoconstricţie după o priză de un β-blocant. Această observaţie sugerează un deficit al autoreceptorilor M_2, care, în stare normală, contracarează efectul unui blocaj al receptorilor adrenergici presinaptici (FABER J., 1991; FOLKERTS G., 1991; BARNES P. J., 1992 a, b).

Receptorii M_2 pot fi alteraţi de specii reactive ale oxigenului eliberate de celulele inflamatorii în astm, de proteina bazică majoră (PBM) şi de eozinofil-peroxidază (EPO) eliberate de eozinofile, la animale sensibilizate cât şi la astmatici, care inhibă interacţiunea ligand-receptor şi/sau de neuraminidazele virale prezente în infecţiile respiratorii (CASALE B. T., 1988; MINETTE P. A., 1990; BARNES P.J., 1994; BARRETT E. K., 1995). Această alterare M_2 antrenează o anulare a inhibării eliberării acetilcolinei, contribuind astfel la exacerbarea reactivităţii bronşice.

În privinţa receptorilor M_3, de la nivelul fibrelor musculare netede care mediază efectele postganglionare ale acetilcolinei, aceştia determină contracţia musculaturii netede bronşice, vasodilataţie şi stimularea secreţiei de mucus (JANSSEN L. J., 1990). Unele studii nu au consemnat o creştere a afinităţii sau numărului lor.

Şi activarea căilor aferente parasimpatice pot determina un răspuns exagerat la acţiunea diverşilor stimuli. Astfel, stimuli mecanici şi chimici (poluanţi atmosferici, ozonul inhalat) şi, probabil, infecţiile bronşice, acţionând asupra receptorilor de iritaţie, printr-un reflex colinergic, provoacă bronhoconstricţie (BARNES P. J., 1992 a). Aceşti receptori pot fi activaţi de mediatori inflamatori, ca histamina,

serotonina, $PGF_2\alpha$. Stimularea receptorilor J (juxtacapilari) de către congestia sau edemul pulmonar determină, de asemenea, bronhoconstricție.

Fibrele nervoase C sunt activate de o varietate de stimuli – capsaicină, bradikinină, prostaglandine, cu inducerea unei bronhoconstricții severe și secreție de mucus.

O categorie de fibre C conține neuropeptide ca tahikinine și calcitonin-gene related peptide (CGRP), a căror eliberare este stimulată de capsaicină (BARNES P. J., 1991 a, b; 1992 a, b). Activarea retrogradă a acestor fibre, printr-un reflex de axon, poate conduce la inflamația căilor aerifere (inflamație neurogenă) și bronhoconstricție (BARNES P. J., 1992 a).

O altă cauză a exacerbării răspunsului colinergic este reprezentată de accesul mai ușor al diferiților stimuli specifici și nespecifici asupra terminațiilor nervoase în urma distrugerii epiteliului căilor aerifere (GODARD Ph., 1990).

6.1.2. Rolul sistemului nervos adrenergic

Inervația simpatică a căilor aerifere este foarte săracă. A fost evidențiată în vasele bronșice, glandele submucoase și la nivelul ganglionilor parasimpatici și fibrelor colinergice postganglionare (BARNES P.J., 1990 a). La nivelul mușchilor netezi ai căilor aerifere inervația simpatică este aproape inexistentă, în timp ce receptorii β-adrenergici sunt prezenți din abundență, activați probabil de adrenalina circulantă (BARNES P. J., 1986 a; COBURN R. F., 1990). Alături de noradrenalină, în terminațiile nervoase simpatice este colocalizat neuropeptidul Y (NPY) (POTTER E. K., 1988). La animal neuropeptidul Y diminuă transmisia colinergică și este un vasoconstrictor puternic al mușchiului neted arteriolar (STRETTON C. D., 1988; BARNES P. J., 1991 a).

Receptorii β-adrenergici (RBA) – β_1 și β_2, în proporție la om de 30/70 răspund: β_1 – la noradrenalina eliberată de fibrele nervoase simpatice și β_2 – la adrenalina circulantă (BARNES P. J., 1992 a; BAI T. R., 1992). Receptorii β_2 sunt prezenți la nivelul celulelor musculare netede ale căilor aerifere, celulelor epiteliale, pneumocitelor de tip I și II, mastocitelor, celulelor endoteliale și musculare netede vasculare (CARSTAIRS J. R., 1985; BARNES P. J., 1990 a).

Stimularea receptorilor β_2-adrenergici produce o relaxare importantă a mușchiului neted respirator. Prin prezența receptorilor β_2-adrenergici la nivelul ganglionilor parasimpatici și fibrelor colinergice postganglionare, aceștia au rol inhibitor asupra transmisiei colinergice (BARNES P. J., 1990 a, 1992 a; BAI T. R., 1992). De asemenea, ei inhibă eliberarea de mediatori de către mastocite.

Rolul RBA în hiperreactivitatea bronșică a fost mult discutat. Ipoteza emisă acum 30 de ani de Szentivanyi, care consideră că la originea astmului ar fi o

anomalie în numărul și răspunsul RBA (SZENTIVANYI A., 1968), a generat numeroase studii, al căror rezultate sunt contradictorii și, în mare parte, infirmate.

Chiar dacă la originea astmului nu este un defect major al receptorilor β-adrenergici, anomalii de funcționare ale acestor receptori pot contribui la creșterea bronhoconstricției. Bronhoconstricția indusă la astmatici prin blocanți β-adrenergici pare a fi dată de eliberarea crescută de acetilcolină, secundară blocajului β-receptorilor prejoncționali, pentru că această reacție poate fi blocată prin administrarea de atropină (BAI T. R., 1992).

Alte studii implică funcționalitatea însăși a RBA. În administrarea cronică la astmatici de agoniști β-adrenergici se produce, uneori, o diminuare a răspunsului bronhodilatator, o creștere a eliberării de mediatori inflamatori de către mastocite și tendința de a dezvolta edeme ale peretelui bronșic, efecte ce sunt atribuite unei desensibilizări a receptorilor β-adrenergici (O'CONNOR B. J., 1992).

Produși ai inflamației, cum ar fi radicalii de O_2, pot scădea funcția β-receptorilor căilor aerifere, iar factorul activator plachetar (PAF) reduce densitatea lor (ENGELS F., 1985; CASALE B. T., 1988; NECHIFOR M., 1996 b).

Receptorii α-adrenergici – clasificați în subtipurile α_1 și α_2, în număr redus în plămânul uman, sunt localizați în vasele pulmonare și bronșice, la nivelul celulelor epiteliului bronșic. A fost sugerată prezența receptorilor α_2 la nivelul glandelor submucoase, a ganglionilor parasimpatici intramurali, a fibrelor nervoase colinergice și a fibrelor C senzitive (BARNES P. J., 1992 a).

Stimularea α-adrenergică *in vitro* crește secreția de mucus și produce o contracție a mușchiului neted respirator, dar la om și câine acest efect nu apare decât dacă țesuturile au fost precontractate cu histamină sau serotonină (BARNES P. J., 1986 b). *In vivo,* la animal, stimularea α-adrenergică induce o vasoconstricție a vaselor pulmonare și bronșice și o scădere a permeabilității vasculare (LOCKART A., 1992).

Inhalarea de agoniști α-adrenergici nu are efect asupra tonusului bronhomotor la omul sănătos, dar cauzează o bronhoconstricție la astmatici. Acest efect este atribuit unui răspuns exagerat al α-adrenoreceptorilor sau creșterii numărului lor, dar la fel poate oglindi o HRB nespecifică. De asemenea, obstrucția bronșică poate fi indirect datorată α-receptorilor de la nivelul vaselor sanguine, cu modificarea tonusului lor și a debitului sanguin. Poate fi implicată și o scădere a activității receptorilor α_2 prejoncționali, cu rol inhibitor în transmisia colinergică.

Se consideră, totuși, că receptorii α-adrenergici au un rol minor în controlul tonusului bronhomotor, având în vedere densitatea lor redusă și faptul că administrarea de prazosin (un blocant α_1-adrenergic) nu are nici un efect asupra tonusului bronșic la astmatici și care răspund în schimb prin bronhodilatare, la inhalarea de agoniști β-adrenergici (FABER J., 1991; MICHOUD M. C., 1994).

Catecolaminele circulante în astm. În repaus nivelul plasmatic al catecolaminelor este normal la astmatici. În stări de stres, creşterea valorilor adrenalinei şi noradrenalinei este întotdeauna mai redusă la aceşti pacienţi decât la subiecţii sănătoşi (BARNES P. J., 1990 a). Este foarte posibil ca această anomalie să contribuie la HRB, dar ea nu este totuşi cauza, pentru că pacienţii care suferă o ablaţie a glandelor suprarenale nu prezintă o HRB.

6.1.3. Rolul sistemului nervos nonadrenergic noncolinergic (NANC)

Individualizat recent, cu o componentă excitatoare şi una inhibitoare, a fost considerat iniţial ca un sistem nervos distinct. Actualmente, se apreciază că este vorba, mai degrabă, de eliberarea la nivelul nervilor autonomi clasici de cotransmiţători (BARNES P. J., 1992 a).

– ***Sistemul nervos nonadrenergic noncolinergic excitator*** (NANCe) – determină bronhoconstricţie, creşterea secreţiei de mucus, vasodilataţie şi edem, având drept mediatori tahikinine, ca neurokininele A şi B, substanţa P, *calcitonin – gene – related peptide* (CGRP) şi *gastrin releasing peptide* (GRP) (BARNES P. J., 1991 a).

Aceste tahikinine sunt substanţe puternic proinflmatorii, care pot fi eliberate de către unele fibre senzitive C printr-un reflex de axon, având probabil rol în amplificarea şi perpetuarea inflamaţiei bronşice (BARNES P. J., 1986 c).

Tahikininele sunt degradate în căile aerifere de enzima de conversie localizată în endoteliul vascular şi de endopeptidaza neutră localizată în epiteliul bronşic (BRONSON D. B., 1991).

Creşterea efectelor tahikininelor poate fi atribuită scăderii producţiei de neuroendopeptidaze datorate distrucţiilor epiteliale descrise în astm sau în infecţii virale (BARNES P. J., 1990 b).

– ***Sistemul nervos nonadrenergic noncolinergic inhibitor*** (NANCi)

Acesta este, de fapt, singurul sistem nervos bronhodilatator prezent în căile aerifere umane (DIAMOND L., 1988; BARNES P. J., 1992 a). Principalul mediator al acestui sistem este polipeptidul intestinal vasoactiv (VIP), având un posibil efect neuromodulator asupra neurotransmisiei colinergice, atât la nivel ganglionar, cât şi postganglionar, fiind cotransmiţător cu acetilcolina (BARNES P. J., 1990 c).

VIP relaxează bronhiile umane *in vitro* (BELVISI G., 1992) şi este de aproape 100 ori mai potent decât izoprenalina, fiind mediatorul endogen cel mai puternic (PALMER J.B., 1986). El are, de asemenea, acţiune antiinflamatoare, inhibând eliberarea mediatorilor mastocitari şi este un scavenger al speciilor reactive ale oxigenului (SAIA I. S., 1988; BARNES P. J., 1991 a).

În astm, prin studii imunochimice, s-a evidențiat absența receptorilor pentru VIP. De asemenea, prin tehnici histochimice, s-a demonstrat absența VIP pe biopsii de țesut pulmonar de la astmatici. Totuși, absența VIP nu poate fi un factor cauzal, dar reflectă o degradare enzimatică indusă prin fenomene inflamatorii. VIP este degradat rapid de triptaza mastocitară și alte enzime ale celulelor inflamatorii (TONNEL A. B., 1992).

Un alt neurotransmițător posibil al NANCi este oxidul nitric (NO), cu efect bronhodilatator, atât direct asupra mușchiului bronșic, cât și indirect, prin diminuarea eliberării acetilcolinei în terminațiile nervoase colinergice (TUCKER J. F., 1990; BELVISI M. G., 1992; BARNES P. J., 1993). S-a demonstrat că inhibiția sintezei de NO determină o potențare marcată a bronhoconstricției colinergice la cobai *in vitro* (BELVISI M. G., 1991). NO eliberat din nervi sau din alte celule poate fi degradat mai rapid în procesele inflamatorii.

6.2. Rolul mediatorilor inflamatori

6.2.1. Histamina

Principalele rezerve de histamină se găsesc în mastocitele tisulare și în echivalentul lor sanguin – bazofilele. Ea este stocată în granule, împreună cu heparina, care o protejează de eventuala degradare de către histaminază (FAMAEY J. P., 1982).

Histamina este un mediator important în procesul inflamator, fiind eliberată rapid după contactul cu antigenul, dar și sub acțiunea unor stimuli non-alergici sau a unor substanțe eliberate de alte celule participante la procesul inflamator, ca diferite citokine, factori chemotactici, proteina bazică majoră eozinofilică, specii reactive ale oxigenului. Se consideră că aceștia din urmă sunt degranulatori efectivi ai mastocitelor (VAN OOSTERHOUT A. J. M., 1990; MICHEL F. B., 1990).

Eliberarea histaminei este, pe de altă parte, inhibată de factori ce cresc nivelul intracelular al AMPc (β simpaticomimetice, PGE, inhibitori ai fosfodiesterazei). Histamina ea însăși inhibă eliberarea ei (KUMACAI Pr. A., 1980).

Histamina este detectabilă în circulație la om, cu valori între 0,2–0,4 ng/ml. Valorile sunt mai mari în cursul dimineții și la astmatici. Au fost evidențiate la astmatici creșteri moderate de histamină în sânge în timpul bronhoconstricției induse de alergeni sau efort și cantități crescute în lavajul bronho-alveolar după provocare cu alergeni sau stimuli hiperosmolari (CHUNG K. F., 1992).

Histamina are efecte multiple asupra căilor respiratorii, ce sunt mediate de trei subtipuri de receptori: H_1, H_2, H_3 (DOELMAN C. J. A., 1991; BARNES P. J., 1992 a; CHUNG K. F., 1992).

- Subtipul H_1 mediază bronhoconstricția, constricția vaselor pulmonare și creșterea permeabilității venulelor postcapilare. De asemenea, stimulează eliberarea de

neuropeptide din nervii senzitivi în căile aeriene ale plămânului izolat, perfuzat, de cobai (BARNES P. J., 1992 a). Pe lângă efectul direct contractil asupra musculaturii netede mediat de receptorii H_1, bronhoconstricţia rezultă şi prin stimularea de către histamină a fibrelor aferente capsaicin senzitive, ce stă la originea unui reflex colinergic. La reflexul colinergic bronhoconstrictor participă şi triptaza eliberată o dată cu histamina din mastocite, enzimă ce degradează intens VIP. Acesta este cotransmiţător împreună cu acetilcolina şi care antagonizează efectul bronhoconstrictor la stimularea fibrelor nervoase colinergice (BARNES P. J., 1991 b).

- Subtipul H_2 – mediază vasodilataţia şi creşterea secreţiei de mucus din căile aerifere (DOELMAN C. J. A., 1991). Antagoniştii H_2 nu au efect asupra bronhoconstricţiei induse de histamină.
- Subtipul H_3. Aceşti receptori au rol modulator asupra neurotransmisiei colinergice atât la nivel ganglionar, cât şi asupra fibrelor postganglionare. Agonistul selectiv α-metilhistamină inhibă transmisia colinergică la nivelul căilor respiratorii.

Receptorii H_3 modulează şi eliberarea de neuropeptide bronhoconstrictoare din nervii senzitivi. Astfel, α-metilhistamina inhibă bronhoconstricţia NANCe în bronhii de cobai *in vitro,* dar nu afectează răspunsul contractil la substanţa P.

Agoniştii selectivi H_3 ar avea un efect benefic în tratamentul astmului, dar este necesară o mare specificitate pentru a nu activa receptorii H_1, cu declanşarea bronhoconstricţiei (DOELMAN C. J. A., 1991).

6.2.2. Serotonina

Serotonina sau 5-hidroxitriptamina (5-HT), produsă de mastocite şi eliberată de mastocite şi trombocite, are efect vasoconstrictor pulmonar şi bronhoconstrictor. La nivelul căilor aerifere serotonina facilitează eliberarea acetilcolinei din nervii colinergici postganglionari şi creşte excitabilitatea fibrelor C.

6.2.3. Produşii ciclooxigenazei

Reprezintă produşi de oxidare ai acidului arahidonic (AA). AA este eliberat din fosfolipidele membranare prin activarea fosfolipazei A_2, o enzimă membranară activată de Ca^{2+} şi capabilă să hidrolizeze diferite fosfolipide, fără specificitate foarte îngustă (CHAP H., 1983). Activarea ei poate fi indusă de creşterea nivelului Ca^{2+} citoplasmatic, consecutiv stimulării celulare. Cel mai adesea AMPc inhibă eliberarea AA, inhibiţie explicată prin stimularea pompei de Ca^{2+} ATP dependentă. AA este oxidat prin mai multe căi metabolice (RAEBURN D., 1990). Dintre acestea, două sunt căile metabolice majore: ciclooxigenaza şi 5-lipooxigenaza (BARNES P. J., 1991 b).

Ciclooxigenaza microzomală generează în prima etapă endoperoxizi instabili PGG_2 şi PGH_2, care apoi sunt metabolizaţi de enzime specifice la PGD_2, $PGF_2\alpha$,

PGE_2, PGI_2 sau TxA_2 depinzând de tipul celulelor inflamatorii (BEREZIAT G., 1983; NECHIFOR M., 1993). Efectele acestor prostaglandine sunt mediate prin legarea lor de subtipurile de receptori PG (de exemplu: EP, TP, DT) a căror selectivitate variază în funcție de tipul PG (BARNES P.J., 1991 b).

În mușchiul neted din căile respiratorii, receptorii din subtipul TP mediază răspunsul bronhoconstrictor la mai multe prostaglandine (PGD_2, $PGF_2\alpha$, TxA_2). TxA_2 crește concentrația Ca^{2+} citosolic, produce agregarea plachetară și este un agent bronhoconstrictor puternic. PGD_2 și $PGF_2\alpha$ sunt agenți bronhoconstrictori când sunt administrați prin aerosoli. PGD_2 este de 30 de ori mai activă decât histamina (CHUNG K. F., 1992). PGE_2 este bronhodilatatoare la subiecții astmatici, dar s-au semnalat și răspunsuri bronhoconstrictoare, posibil datorate stimulării fibrelor C vagale aferente.

În timpul bronhoconstricției induse de antigeni la subiecții astmatici s-au măsurat niveluri ridicate de metaboliți ai $PGF_2\alpha$ și TxB_2 în plasmă și de PGD_2 în fluidul de lavaj bronhoalveolar.

Inhibiția Tx-sintetazei de către OKY-046 și a receptorilor de Tx cu antagonistul AA-2414 îmbunătățesc semnificativ hiperresponsivitatea bronșică la metacolină la subiecți astmatici (CHUNG K. F., 1992). Inhibarea căii ciclooxigenazei cu indometacin nu are efect asupra funcției pulmonare la subiecți normali și astmatici, deși unii astmatici au semnalat o înrăutățire simptomatică după aspirină sau indometacin. S-a sugerat că inhibarea ciclooxigenazei, induce o creștere a sintezei de leucotriene prin 5-lipooxigenază. Aceasta s-a numit diversiune de substrat și ar explica efectele semnalate (RAEBURN D., 1990).

6.2.4. Produșii lipooxigenazei

Sub acțiunea **5-lipooxigenazei,** acidul arahidonic este metabolizat în intermediarul instabil 5-HPETE (5-hidroperoxieicosatetraenoic acid) și apoi în LTA_4, care poate fi apoi convertită la LTB_4 sau conjugată prin reducerea glutationului la LTC_4. LTC_4 este metabolizată prin clivarea acidului său glutamic terminal, pentru a forma LTD_4 (via γ-glutamil-transferază). LTD_4 este metabolizată mai departe de către o dipeptidază la LTE_4 – cea mai stabilă LT (se elimină renal după o criză de astm) (BARNES P.J., 1991 a).

Amestecul de LTC_4, LTD_4 și LTE_4 reprezintă SRS-A, căreia îi erau atribuite fenomenele tardive ale reacției alergice (BOYER J., 1983).

LT sunt bronhoconstrictori puternici și inductori ai extravazării plasmei din microcirculație. Pe baza studiilor MEFR 30 *(Maximal Expiratory Air Flow Rate)* la 30% din CV și conductanței specifice la pacienți cu astm, s-a evidențiat că LT afectează atât căile respiratorii centrale, cât și periferice (LEWIS R. A., 1990). LTC_4 și LTD_4 sunt de peste 1000 de ori mai puternic bronhoconstrictoare decât histamina. LTE_4 produce efecte de numai 1% față de LTC_4 și LTD_4.

Studii clinice sugerează că joacă un rol important în bronhoconstricția din efort și răspunsurile inflamatorii la alergen, deoarece antagoniști puternici ai receptorilor LTD_4 ca MK-571 și ICI-204, 219 determină un efect inhibitor marcat (BARNES P. J., 1991 a; CHUNG K. F., 1992; PERRIN L. F., 1992). De asemenea, produșii 5-lipooxigenazei intervin și în obstrucția indusă de hiperventilație, inhalarea de aer rece, acumularea de eozinofile, bronhoconstricția la aer rece fiind abolită de zileuton, inhibitor de 5-lipooxigenază (FISCHER A.R., 1995).

La nivelul căilor respiratorii s-a evidențiat existența receptorilor pentru LTD_4, în schimb nu a putut fi identificat în plămânul uman un receptor distinct pentru LTC_4(LEWIS R. A., 1990). Studii pe bronhie izolată de la pacienți cu astm sugerează că efectele biologice atribuite LTC_4 s-ar datora unei bioconversii în LTD_4. Leucotrienele administrate ca o injecție bolus pe fâșii de bronhie umană sunt echiactive și produc contracții lente la pornire, dar care durează mai mult decât cele provocate de histamină (BARNES N., 1986). LT par să aibă o acțiune bronhoconstrictoare directă în țesutul pulmonar uman și nu sunt evidențe că ele stimulează eliberarea de TxA_2, ca în plămânii perfuzați de cobai.

Rezultatele unui studiu efectuat pe mușchi neted traheal izolat de oaie sensibil la antigenul *Ascaris suum* au arătat că LTC_4 și LTD_4 au provocat contracții în funcție de doză, amploarea acestora fiind mai mare când era inhibată conversia lor în LTE_4. Indometacinul n-a avut efect asupra acestor contracții (TOMIOKA K., 1990).

LTE_4, dar nu și LTC_4 sau LTD_4, mărește tranzitor efectul constrictor al histaminei în căile respiratorii de cobai (DOELMAN C. J. A., 1991).

LTB_4 este un agent chemotactic extrem de evident pentru neutrofile. Activează neutrofilele umane pentru a produce eliberarea de enzime lizozomale și anioni superoxid și mărește exprimarea de receptori de suprafață ai complementului pentru neutrofile și eozinofile.

În diverse studii, cisteinil leucotriene au fost identificate în fluidul de lavaj bronhopulmonar, în plasmă (LTC_4 și LTD_4) sau urină (LTE_4) și în secreții nazale la pacienți sensibili după provocare cu aspirină (LTC_4) (AZEVEDO I., 1995).

Referitor la producția de LT din surse celulare, s-a stabilit că ionoforul de calciu A_{23187} activează eozinofile și generează 25–50 ng de LTC_4/106 celule, mastocitele produc LTC_4 dar nu LTB_4, macrofagele în schimb generează o cantitate importantă de LTB_4 ca și neutrofilele. Numai monocitele pot genera cantități comparabile de LTB_4 și LTC_4 ca răspuns la ionoforul de calciu sau stimuli transmembranari (LEWIS R. A., 1990).

Pentru inhibarea LT au fost găsiți mai mulți inhibitori ai 5-lipooxigenazei, dar care, în prezent, au efect relativ slab (BARNES P.J., 1991 a). Altă cale este folosirea inhibitorilor unui cofactor legat de membrană (FLAP, proteina activatoare 5-lipooxigenază) care plasează enzima în opoziție cu substratul său AA în membrana celulară. MK-886 este un astfel de produs care se studiază.



Toate observaţiile recente sugerează că inhibarea acţiunii LT ar putea aduce un beneficiu clinic.

● Pe calea **12-lipooxigenazei** se formează hepoxilinele, implicate şi ele în bronhoconstricţie la astmatici, alături de alţi icosanoizi (NECHIFOR M., 1996 a).

● Sub acţiunea **15-lipooxigenazei,** prezentă atât în parenchimul pulmonar, cât şi la nivelul bronhiilor, se sintetizează 15-HETE (acid 15-hidroxieicosatetraenoic) şi lipoxine (LX), sinteză crescută în astmul bronşic. LXA_4 şi LXB_4 au efect bronhoconstrictor. Acesta este dat, în parte, indirect, prin stimularea eliberării de LTC_4 şi LTD_4 dar şi prin creşterea răspunsului musculaturii netede la factori bronhoconstrictori ca histamina sau LTD_4. Lipoxina A_4 ar putea fi implicată în bronhoconstricţie şi prin generarea de TxA_2.

Un alt mecanism posibil ar fi următorul: în bronhoconstricţia dată de stimularea prin factori iritanţi a fibrelor nervoase sensibile la capsaicină ar fi implicate lipoxinele şi nu alţi icosanoizi.

PAF-ul, unul dintre cei mai puternici bronhoconstrictori, stimulează sinteza de lipoxine la nivel bronhopulmonar. În cooperare cu epiteliul bronşic, macrofagele produc şi ele cantităţi crescute de lipoxine în astmul bronşic şi în infecţii virale, sinteză stimulată de TNF şi IL_1 (NECHIFOR M., 1996 a).

În astmul bronşic există interrelaţii complexe între diferitele clase de icosanoizi, privind acţiunile lor, ca şi posibilitatea de transformare a precursorilor sau a unui intermediar dintr-un tip în altul.

Mai importantă decât implicarea fiecărei grupe de eicosanoizi luate izolat, este perturbarea raporturilor dintre variatele clase de lipide biologic active.

6.2.5. PAF (Plateled Activating Factor)

Nu numai în plachetele sanguine, ci şi în multe celule inflamatorii fosfolipaza A_2 generează lyso-PAF, care este apoi convertit de către PAF acetiltransferază în mediatorul său activ PAF (VERGNEEGRE A. 1983; BARNES P.J., 1991 a).

Eliberarea PAF are loc numai în prezenţa Ca^{2+} extracelular şi a albuminei care devine proteina sa transportoare (HOULIHAN W. J., 1987). PAF are efecte inflamatorii puternice asupra căilor respiratorii şi mimează fiziopatologia astmului mai bine decât oricare alt mediator izolat (BARNES P.J., 1991 a).

PAF inhalat produce la om o bronhoconstricţie rapidă şi mai puternică decât metacolina (CHUNG K. F., 1992). PAF activează o gamă largă de celule inflamatorii *in vitro* incluzând plachetele, neutrofilele şi monocitele. În pielea subiecţilor astmatici injecţia intradermală de PAF a dus la o acumulare de eozinofile.

În astmul antigen-indus la cobai, PAF determină bronhoconstricție și infiltrare eozinofilică a căilor aerifere, iar un antagonist de PAF-receptor (Y_{24180}) are efect protector; de asemenea, reduce HRB la pacienții astmatici (HOZAWA S., 1995). Interacțiunea dintre PAF și eozinofile poate reprezenta un mecanism autopotențator pentru răspunsul inflamator al căilor respiratorii (CHUNG K. F., 1992).

PAF a fost detectat în plasma astmaticilor în timpul răspunsurilor tardive induse de antigen. Cantități crescute de PAF în fluidul de lavaj bronhoalveolar la astmatici, constituie un element în favoarea rolului activ în astm (STENTON S. C., 1990).

Contracția bronșică produsă de PAF este determinată prin acțiunea directă a PAF-ului pe musculatura netedă respiratorie, prin stimularea de către PAF a sintezei și eliberării unor factori bronhoconstrictori și mai ales icosanoizi, prin creșterea reactivității bronșice la diferiți agenți bronhoconstrictori și reducerea densității β-receptorilor adrenergici la nivel bronhopulmonar (NECHIFOR M., 1996 b).

Efectul bronhoconstrictor al PAF-ului inhalat n-a fost inhibat de medicamente anticolinergice arătând că nu sunt implicate mecanismele reflexului colinergic (SMITH L. J., 1988). În schimb, PAF-ul perfuzat la câine în arterele traheale crește bronhoconstricția ce apare prin stimulare vagală (BETHEL R. A., 1987, citat de NECHIFOR M., 1996 b).

PAF-ul este implicat, de asemenea, în leziunile produse la nivelul epiteliului alveolar și la nivel microvascular, prin eliberarea de enzime lizozomale leucocitare, stimularea sintezei de citokine, liza și detașarea unor părți din endoteliul vascular, creșterea permeabilității vasculare, stimularea formării de radicali peroxidici (NECHIFOR M., 1996 b).

Mai mulți antagoniști ai PAF-ului, actualmente disponibili, inhibă efecte cum ar fi activarea eozinofilelor, bronhoconstricția și permeabilitatea microvasculară crescută a căilor respiratorii (CINNO M., 1986, SUGASAWA T., 1991, citați de NECHIFOR M., 1996 b).

6.2.6. Alți mediatori

Adenozina stimulează două tipuri de receptori, A_1 și A_2, funcțional diferențiați prin interacțiunea lor stimulatoare, respectiv inhibitoare, cu sistemul adenilatciclazei. În plus, adenozina mărește eliberarea de mediatori din mastocite stimulate de antigen. Teofilina este un inhibitor al adenozinei și un medicament antiastmatic. În plămân receptorii A_2 sunt predominanți și, probabil, și pe mastocitele căilor aeriene.

Inhalarea adenozinei produce bronhoconstricție la pacienții astmatici, nu și la subiecții normali (POST M., 1989; BARNES P. J., 1992 a). Se consideră că bronho-

constricţia indusă de adenozină se datorează, parţial, stimulării sintezei de peptido-leucotriene, derivaţi 12-lipooxigenazici şi alţi icosanoizi bronhoconstrictori (VIGANO T., 1987, citat de NECHIFOR M., 1996 a).

Specii reactive ale oxigenului. Diferite tipuri de celule ca macrofage, neutrofile, eozinofile şi mastocite, activate în timpul proceselor inflamatorii, generează specii reactive ale oxigenului, ca anionul superoxid şi peroxidul de hidrogen (CHUNG K.F., 1992). Aceştia au rol important în inflamaţia şi distrucţia epitelială în astm (BARNES P. J., 1990 b).

Peroxidul de hidrogen induce contracţia muşchiului neted al căilor aerifere (RHODEN K. J., 1989) şi a fost implicat în hiperreactivitatea bronşică la modele animale (KATSUMATA U., 1990). Efect contractil are şi acidul hipocloros asupra musculaturii netede traheale de cobai, care este prevenit de N-acetilcisteină.

În astmul bronşic creşte injuria oxidantă în urma distrucţiilor epiteliale, prin reducerea apărării antioxidante. De asemenea, la astmatici a fost dovedită scăderea concentraţiei sanguine atât a unor scavengeri enzimatici ai speciilor reactive ale oxigenului, ca superoxid dismutaza (SOD) şi glutation-peroxidaza (GSH-Px), cât şi a seleniului (NATARAJAN V., 1995).

Acidul ascorbic în concentraţii mari, reduce bronhoconstricţia la subiecţii astmatici (CHUNG K.F., 1992).

Speciile reactive ale oxigenului induc o disfuncţie a β-adrenoreceptorilor (ENGELS F., 1985), cu un dezechilibru între receptorii β-adrenergici şi muscarinici (GUPTA B. J., 1992; SANDOR S., 1993; OLINESCU R., 1994). Se adaugă activarea de către speciile reactive ale oxigenului a fosfolipazei A_2, cu declanşarea cascadei acidului arahidonic, în timpul căreia se eliberează, de asemenea, specii reactive ale oxigenului, sugerând că, parţial, efectul contractil al acestora se datorează acţiunii produşilor rezultaţi din metabolizarea acidului arahidonic, ca tromboxan, prostaglandine, leucotriene (OLINESCU R., 1994; STEVENS W. H. M., 1995).

Faptul că indometacinul atenuează răspunsul contractil al peroxidului de hidrogen este o dovadă a participării produşilor ciclooxigenazei la acest efect (CHUNG K. F., 1992). De asemenea, speciile reactive ale oxigenului produse în timpul proceselor inflamatorii, la rândul lor, au rol în eliberarea mastocitară a histaminei, mediator cu rol important în hiperreactivitatea bronşică (VAN OOSTERHOUT A. J. M., 1990; MICHEL F. B., 1990).

Kininele. Bradikinina este un puternic constrictor al căilor aeriene la astmatici *in vivo,* dar acest efect este slab la nivelul căilor aerifere umane *in vitro* (FULLER R. W., 1987; BARNES P. J., 1992 c). Inhalarea bradikininei produce o senzaţie de dispnee foarte asemănătoare cu cea din timpul crizei de astm şi susţine ideea că bradikinina acţionează asupra nervilor senzitivi din căile aerifere, cu declanşarea

unui reflex colinergic (FULLER R. W., 1987). Acest efect bronhoconstrictor este redus de un anticolinergic și, de asemenea, de cromolinul de sodiu și nedocromilul de sodiu, care ar putea acționa asupra nervilor senzitivi (FULLER R. W., 1987; DIXON C. M., 1989). La cobai, bronhoconstricția indusă de bradikinină este pronunțat redusă de atropină și de depleția de capsaicină a nervilor senzitivi (ICHINOSE M., 1990).

Anafilatoxinele. Anafilatoxinele, C_{3a} și C_{5a}, peptide generate de cascada complementului, sunt agenți chemotactici și induc creșterea permeabilității microvasculare, iar C_{5a} contractă mușchiul neted aerifer (REGAL J. F., 1989).

Cunoștințele sunt reduse în ce privește rolul acestor peptide în astmul uman, deși este probabil că ele produc un exsudat plasmatic în căile aerifere.

BIBLIOGRAFIE

1. American Thoracic Society. *Standards for the diagnosis and care of patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and asthma.* Am. Rev. Resp. Dis., 1987, 136: 225–244.

2. LOCKHART A., MALO J. L., *Hyperréactivité bronchique. Definition (s) et historique.* Rev. Mal. Resp., 1994, 11, 85–92. Masson, Paris.

3. FOLKERTS G., *Virus – induced Hyperresponsiveness.* Promotor prof. dr. F. P. Nijkamp, Amsterdam, 1991.

4. MICHOUD M. C., LERORIER J., AMYOT R., *Factors modulating the inter-individual variability of airway responsiveness to histamine. The influence of H_1 and H_2 receptors.* Bull. Eur. Physiopathol. Respir., 1981, 17: 807–821.

5. WOOLCOCK A. J., SALOME C. M., YAN K., *The shape of the dose response curve to histamine in asthmatic and normal subjects.* Am. Rev. Respir. Dis., 1984, 130: 71–75.

6. TOWNLEI R. G., CHENG J., BEWTRA A. K., NAIR N., HOPP R., AGRAWALD D. K., *The role of calcium channel blockers in reaction airway disease.* Annals New-York Academy of Science, 1988, 522: 734–745.

7. BLACK J. L., ARMOUR C. L., *Induction of Hipperresponsiveness in Human Airways in Vivo and in Vitro.* Review, Pulmonary Pharmacology, 1989, 2, 4; 169–178.

8. LEWIS A. R., AUSTEN K. Fr., SOBERMAN R. J., *Leucotrienes and other products of the 5-lipooxygenase pathway. Biochemistry and relation to pathobiology in human diseases.* New Engl. J. of Med., 1990, 323, 10: 645–652.

9. CALDERON E., LOCKEY R., *A possible for adhesion molecules in asthma.* J. Allergy Clin. Immunol., 1992, 90, 5: 952–963.

10. VAN OOSTERHOUT A. J. M., NIHKAMP F. P., *Lympocytes and bronchial hyperresponsiveness.* Life Science, 1990,46: 1256–1264.

11. FABER J., VAN MEERHAEGHE A., *Asthme et hyperréactivité bronchique. Nouveaux concepts.* Rev. Med. Brux., 1991, 12: 9–18.

12. BARNES P. J., *Neural control of airway function: new perspectives.* Molec. Aspects Med., 1990a, 11: 351–423.

13. BARNES P. J., *Modulation of neurotransmission in airways.* Physiological Reviews, 1992a, 72:699–729.

14. MICHOUD M. C., FAJAC I., FROSSARD N., *Hiperréactivité bronchique: facteurs neurogènes.* Rev. Mol. Resp., 1994, 11: 131–140.

15. BARNES P. J., *Muscarinic receptor subtypes in airways.* Eur. Respir. J., 1993, 6: 328–331.

16. LAMMERS J. W., MINETTE P., McCUSKER M., BARNES P. J., *The role of pirenzepine sensitive (M_1) muscarinic receptors in vagally mediated bronchoconstriction in humans.* Am. Rev. Respir. Dis., 1989, 139: 446–449.

17. BARNES P. J., *Neural mechanism in Asthma.* British Medical Bulletin, 1992b, 48, 1: 149–168.

18. CASALE B. T., *Bronchial Hyperreactivity neural Contributions, in Airways Neural Control in health and Disease, Lung biology in health and Disease,* 1988, vol. 33, 467–485.

19. MINETTE P. A., BARNES P. J., *Muscarinic receptor subtypes in airways: function and clinical significance.* Am. Rev. Respir. Dis., 1990, 141: S162–165.

20. BARNES P. J., BARANIUK N. J., BELVISI G. M., *Neuropeptides in the Respiratory Tract: part I.* Am. Rev. Resp. Dis., 1991a; 144: 1187–1198; part II: 1391–1399.

21. BARNES P. J., *Cytokines as mediators of chronic asthma.* Am J. Respir. Crit. Care Med., 1994, 50: S42–S49.

22. BARRETT E. K., BIGBY D. T., *New roles for eicosanoides as regulators of epithelial function and growth.* NIPS, 1995, 10: 153–159.

23. JANSSEN L. J., DANIEL E. E., *Pre- and postjonctional muscarinic receptors in canine bronchi.* Am. J. Physiol. 259 (Lung Cell. Mol. Physiol. 3): 1990, L304–L314.

24. BARNES P. J., *Reviews biochemistry of asthma,* TIBS-16 october 1991b, Elsevier Science Publischers.

25. GODARD Ph., CHANEZ P., CAMPELL A., VACHIER I., DAMON M., BOUSQUET J., MICHEL F. B., *Epithelium bronchique et asthma.* Med. et Hyg., 1990, 48: 2293–2296.

26. BARNES P. J., *Endogenous catecholamines and asthma.* J. Allergy. Clin. Immunol., 1986a, 77: 791–795.

27. COBURN R. F., BARON C. B., *Coupling mechanism in airway smooth muscle.* Am. J. Physiol. (Lung Cell. Moll. Physiol.), 1990, 258: L119–L133.

28. POTTER E. K., *Neuropeptide Y as an autonomic neurotransmitter (review).* Pharmacol. Ther., 1988, 37: 251–273.

29. STRETTON C. D., BARNES P. J., *Modulation of cholinergic neurotransmission in guinea pig trachea by neuropeptide Y.* Br. J. Pharmacol., 1988, 93: 672–678.

30. BAI T. R. *$Beta_2$ adrenergic receptors in asthma: a current perspective.* Lung 1992, 170: 121–141.

31. CARSTAIRS J. R., NIMMO A. J., BARNES P. J., *Autoradiographic visualization of beta-adrenoreceptor subtypes in human lung.* Am. Rev. Respir. Dis., 1985, 132: 541–547.

32. SZENTIVANYI A., *The beta-adrenergic theory of the atopic abnormality in bronchial asthma.* J. Allergy, 1968; 42: 203–232.

33. O'CONNOR B. J., AIKMAN S. L., BARNES P. J., *Tolerance to the non bronhodilatator effects of inhaled $beta_2$ agonists in asthma.* N. Engl. J. Med., 1992, 327: 1204–1208.

34. BARNES P. J., *Neural control of human airways in health and disease.* Am. Rev. Respir. Dis., 1986b, 134: 1289–1314.

35. LOCKART A., DINH-XUAN A. T., REGNARD J., CABANES L., MATRAN R., *Effect of airway blood flow an airflow (review).* Am. Rev. Respir. Dis., 1992, 146: S19–23.

36. BARNES P. J., *Asthma as an axon reflex.* Lancet, 1986c, 1, 242–245.

37. BORSON D. B., *Roles of neutral endopeptidase in airways.* Am. J. Physiol., 1991, 260: L212–225.

38. BARNES P. J., DOELMAN C. J. A., *Reactive species and airway inflamation, in Free Radical Biology and Medicine,* 1990b, 9: 235–243.

39. BARNES P. J., *Neuropeptides as modulators of airway function.* In AAS31: Mediators in Airway Hyperreactivity. Eds: Nijkamp E. et al., Birkhauser Verlag, Basel, 1990c: 175–196.

40. BELVISI M. G., STRETTON D. et al., *Inhibitory NANC nerves in human tracheal smooth muscle, a quest for the neurotransmitter.* J. Appl. Physiol., 1992, 73: 2505–2510.

41. PALMER J. B., CUSS F. M. C., BARNES P. J., *VIP and PHM and their role in non-adrenergic inhibitory responses in isolated human airways,* J. Appl. Physiol., 1986, 61: 1322–1328.

42. SAID I. S., *VIP in the airways, in airways: Neural Control in Health and Disease,* Lung Biology in Health and Disease, 1988, 33: 395–417.

43. TONNEL A. B., MARGUETTE C., WALLAERT B., *Physiopathologie de l'asthme.* Rev. prat. (Paris), 1992, 42 (19): 2399–2404.

44. TUCKER J. F., BRAVE S. R., CHARALAMBOUS L., HOBBS A. J., GIBSON A., *L-NG-nitro arginine inhibitis non-adrenergic non-cholinergic relaxation of guinea-pig isolated tracheal smooth muscle,* Br. J. Pharmacol., 1990, 100: 663–664.

45. BELVISI M. G., STRETTON D., BARNES P. J., *Nitric oxide modulates cholinergic neuro-transmission in guinea pig tracheal smooth muscle.* Eur. J. Pharmacol., 1991, 198: 219–221.

78. DIXON C. M. S., BARNES P. J., *Bradykinin induced bronchoconstriction: inhibition by nedocromil sodium and sodium cromoglycate.* Br. J. Clin. Pharmacol., 1989, 270: 8310–8360.

79. ICHINOSE M., BELVISI M. G., BARNES P. J., *Bradykinin induced bronchoconstriction on guinea-pig in vivo: role of neural mechanism.* J. Pharmacol. Exp. Ther., 1990, 253: 1207–1212.

80. REGAL J. F., *The role of C5a in hypersensitivity reactions in the lung.* Pulm., Pharmacol, 1989, 2: 3-12.

7. CERCETĂRI EXPERIMENTALE PE ORGAN IZOLAT ASUPRA BRONHOMOTRICITĂȚII

Obiectivul urmărit a fost demonstrarea efectelor constrictoare ale unor substanțe biologic active și prevenirea, respectiv reducerea, acestor efecte de către unele blocante ale canalelor de calciu sau de către catecolamine.

Cercetările au fost efectuate pe trahee izolată de cobai, având în vedere că aceasta prezintă caracteristici ultrastructurale și ale inervației asemănătoare cu ale bronhiilor mici umane (DANIEL E.E., 1986). Cobaii masculi, în greutate de 250–300 g, au fost sacrificați pe fond de narcoză, după care s-a prelevat porțiunea superioară a traheei. Aceasta a fost apoi secționată în spirală și plasată în baie de organ cu soluție Tyrode, termostatat la 37°C și barbotat cu aer, iar pentru urmărirea contractilității musculaturii netede traheale s-a utilizat un traductor de forță care înregistrează contracția izomerică redată pe un iscriptor XY (MIHALAȘ G., 1989; PETROIU A., 1994 a).

7.1. Efectul contractil al acetilcolinei, histaminei și al alcoolului

7.1.1. Efectul contractil al acetilcolinei

Acetilcolina, mediatorul chimic postganglionar vagal, prin intermediul receptorilor muscarinici M_3, determină contracția musculaturii netede traheo-bronșice, vasodilatație și stimularea secreției de mucus (JANSSEN L. Y., 1990; BARNES J. P., 1992).

Urmărind relația doză-efect asupra musculaturii netede de trahee izolată de cobai, se constată că răspunsul contractil al acetilcolinei se manifestă începând cu concentrația 4.10^{-8} M și este maxim la 2.10^{-5} M (vezi **fig. 7/1**):

- la concentrația acetilcolinei de 4.10^{-8} M, contracția reprezintă 1,6% (± 0,6) din cea maximă:

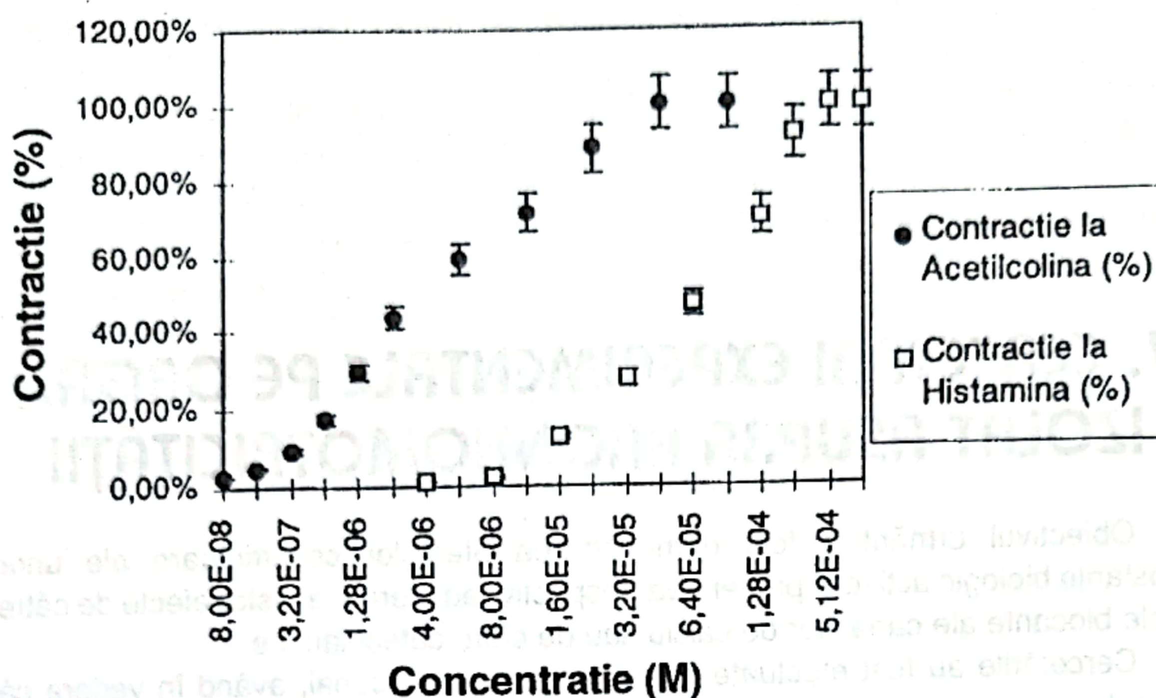


Fig. 7.1 – Efectul comparativ al acetilcolinei și histaminei (curbe doză–efect)

– la 8.10^{-8} M – de 2,63% (± 0,55);
– la $1,6.10^{-7}$ M – de 4,88% (± 2,35);
– la $3,2.10^{-7}$ M – de 9,64% (± 2,73);
– la $6,4.10^{-7}$ M – de 17,64% (± 3,59);
– la $1,28.10^{-6}$ M – de 29,71% (± 5,34);
– la $2,56.10^{-6}$ M – de 43,68% (± 6,62);
– la $5,12.10^{-6}$ M – de 59,18% (± 6,9);
– la $1,02.10^{-5}$ M – de 71,30% (± 7,56);
– la $2,04.10^{-5}$ M – de 88,28% (± 8,07);
– la $4,09.10^{-5}$ M și $8,18.10^{-5}$ M – de 100% (SCHNEIDER F., 1991).

7.1.2. Efectul contractil al histaminei

Histamina determină, printre alte efecte asupra căilor respiratorii, bronhoconstricție, produsă parțial printr-un efect direct asupra receptorilor H_1 de pe fibra musculară netedă și parțial prin activarea unui reflex colinergic, prin stimularea de către histamină a fibrelor aferente capsaicin sensibile (CHUNG K. F., 1992; BARNES P. J., 1992).

Efectul contractil al histaminei, în concentrație de tip doză-efect, apare la 8.10^{-6} M și este maxim la $5,10^{-4}$ M (vezi **fig. 7/1**):
– la concentrația de 4.10^{-6} M, contracția reprezintă 1,22% (± 0,31) din cea maximă;
– la 8.10^{-6} M contracția este de 2,44% (± 0,94);

– la $1,6.10^{-5}$ M – de 12,83% (± 0,83)';
– la $3,2.10^{-5}$ M – de 27,59% (± 5,58);
– la $6,4.10^{-5}$ M – de 46,98 (± 13,81);
– la $1,28.10^{-4}$ M – de 69,95% (±6,49);
– la $2,56.10^{-4}$ M – de 91,87% (± 4,29);
– la $5,12.10^{-4}$ M – de 100% (PETROIU A., 1993).

Se constată că pentru a obține o curbă de tip doză-efect la histamină, concentrațiile sunt mai mari decât cele de acetilcolină, musculatura netedă traheală fiind mult mai sensibilă la aceasta din urmă, care este și mediatorul ce se eliberează în condiții fiziologice (vezi **fig. 7/1**).

7.1.3. Efectul alcoolului asupra musculaturii netede de trahee de cobai

Consumul de alcool, în continuă creștere, a reprezentat obiectul unor numeroase studii. Majoritatea, însă, s-au preocupat de efectele asupra sistemului nervos și a ficatului. Studii privind efectele asupra altor organe sunt relativ reduse și cu rezultate contradictorii (RUSU B., 1988).

Semnalări privind efectul bronhomotor al alcoolului sunt și mai reduse și se referă doar la utilizarea unor concentrații mici, care nu modifică acțiunea unor substanțe bronhomotoare. Se consemnează, în schimb, efectele alcoolului și acetaldehidei asupra motilității cililor celulelor epiteliale din căile aerifere. Astfel, alcoolul, în concentrații mici, de 10 mM, stimulează motilitatea ciliară prin eliberarea oxidului nitric via reglarea oxid nitric sintetazei (SISSON J. M., 1995). În schimb, metabolitul alcoolului – acetaldehida, dependent de concentrație și timpul de acțiune, deprimă motilitatea ciliară până la anulare. Acest efect observat la acetaldehidă, nu și la alcool, se realizează prin inhibarea activității unei ATP-aze ciliare (SISSON J. M., 1991, 1994).

Se pune, însă, problema efectelor alcoolului consumat abuziv și cronic, situații în care aparatul bronho-pulmonar este „bombardat" de concentrația crescută a alcoolului sanguin și a produșilor săi de metabolism – acetaldehidă, acetat, ca și de eliminarea alcoolului pe cale pulmonară. Se adaugă formarea de radicali liberi ai oxigenului în timpul metabolizării alcoolului, unii dintre ei având efect bronhoconstrictor (ȘANDOR S., 1993). De asemenea, trebuie decelat efectul alcoolului de cel al unor substanțe farmacologice cu efect bronhomotor, când alcoolul este utilizat ca solvent pentru acestea din urmă.

Prin prisma celor de mai sus s-au efectuat studii experimentale privind efectul alcoolului asupra musculaturii netede traheale de cobai.

După plasarea spiralei de trahee de cobai în baie de organ, se urmărește tonusul de fond al preparatului. Acesta continuă să se relaxeze ușor și după expirarea timpului de o oră, conform protocolului.

Adăugarea de alcool în concentraţie de 1,4.10^{-2} M nu modifică contracţia indusă de Cl_2Ba (2.10^{-3} M) (SCHNEIDER F., 1991). Acest aspect este în concordanţă cu unele date din literatură, conform cărora, în anumite concentraţii, alcoolul nu modifică contracţia determinată de diferite substanţe, ca acetilcolina, histamina, Cl_2Ba, ClK (FANTA M. C., 1985).

După testarea reactivităţii preparatului cu histamină (10^{-5} M), se utilizează alcool în concentraţii crescânde, de tip doză-efect. Se constată că acesta, în concentraţii între 1,4.10^{-2} şi 5,6.10^{-2} M, creşte treptat tonusul de fond, ca începând de la concentraţii de 11,2.10^{-2} M să determine un efect contractil proporţional cu doza.

Până la concentraţia de 44,1.10^{-2} M, contracţia se menţine, la 30 minute preparatul încă mai este contractat în proporţie de 90%.

La 88,3.10^{-2} M, contracţia se reduce treptat de la 100% la 42% în 30 minute.

La concentraţia de 1,7 M se instalează efectul toxic, concretizat prin relaxarea preparatului, în două-trei minute. Uneori, înainte de relaxare, apare un mic croşet contractil. După spălare, preparatul nu mai răspunde la agenţi constrictori (exemplu la histamină) (vezi **fig 7/2**) (PETROIU A., 1995).

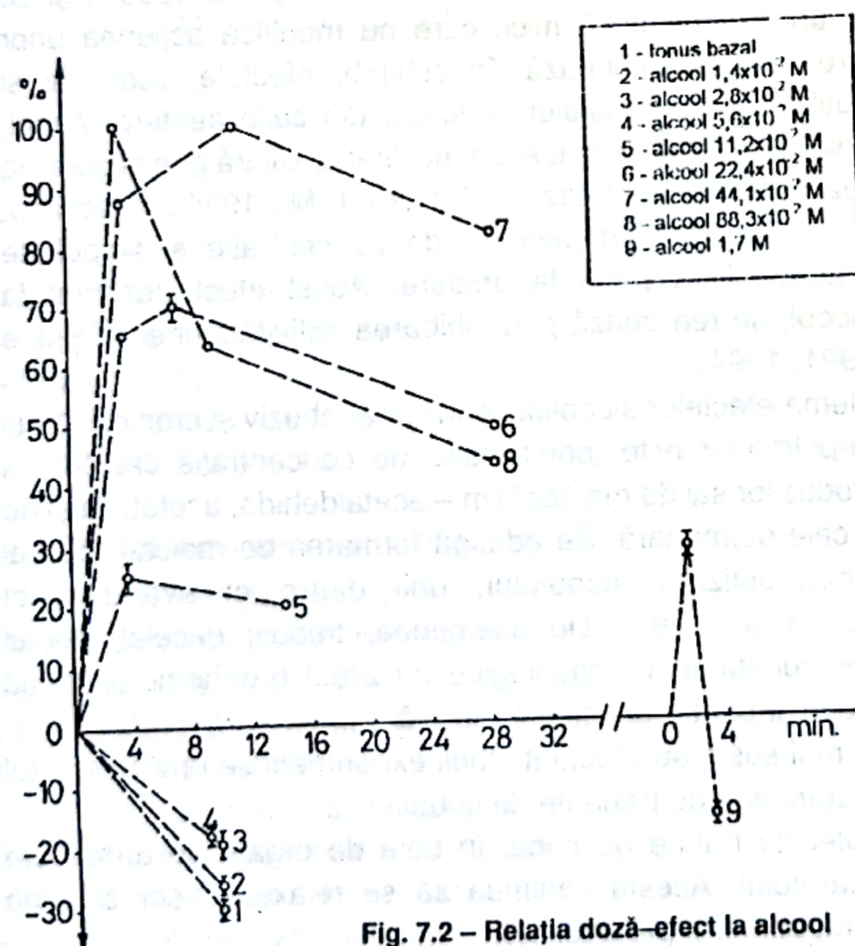


Fig. 7.2 – Relaţia doză–efect la alcool

În concluzie, alcoolul, până la atingerea dozei toxice, are un efect contractil asupra musculaturii netede traheale de cobai proporţional cu doza.

Din datele din literatură, având în vedere acţiunea alcoolului în general asupra membranelor, se consideră că acesta poate acţiona prin:

– eliberarea de radicali liberi ai oxigenului, din care, unii au efect contractil asupra musculaturii netede traheo-bronşice *in vitro*, prin mai multe mecanisme, responsabile şi de un deze-

chiilibru între receptorii β-adrenergici și muscarinici (GUPTA B., 1992; ȘANDOR S., 1993);

– creșterea fluxului transmembranar de calciu din stocurile intracelulare (NECHIFOR M., 1993);

– prin ambele mecanisme se activează fosfolipaza A_2, cu declanșarea cascadei acidului arahidonic, în timpul căreia se eliberează, de asemenea, radicali liberi ai oxigenului, posibilitate prin care alcoolul se interferează complex cu metabolismul eicosanoizilor (NECHIFOR M., 1993; OLINESCU R., 1994).

În această ultimă idee, s-a urmărit influența indometacinului asupra contracției la alcool. Preincubarea cu indometacin – inhibitor de ciclooxigenază, dar și al efectului contractil indus de radicali liberi ai oxigenului, influențează contracția la alcool în funcție de concentrația de indometacin și de durata preincubării.

Preincubarea cu indometacin 10^{-4} M, timp de 15 minute, nu influențează contracția la alcool (vezi **fig. 7/3**). Contracția este anulată la concentrația de indometacin 10^{-3} M preincubat 30 de minute, în timp ce preparatul răspunde la alți agenți constrictori (exemplu la histamină) (vezi **fig. 7/4**). Această anulare a contracției alcoolice de către indometacin este în concordanță cu datele din

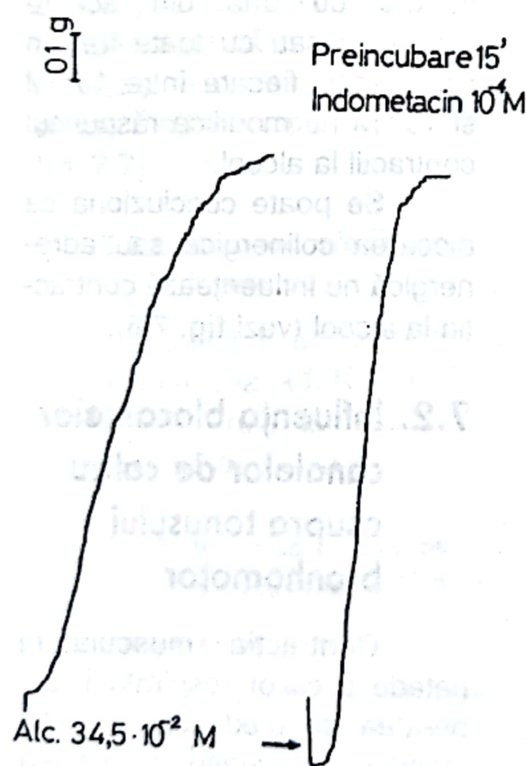


Fig. 7.3 – Preincubarea cu indometacin 10^{-4} M nu influențează efectul contractil al alcoolului

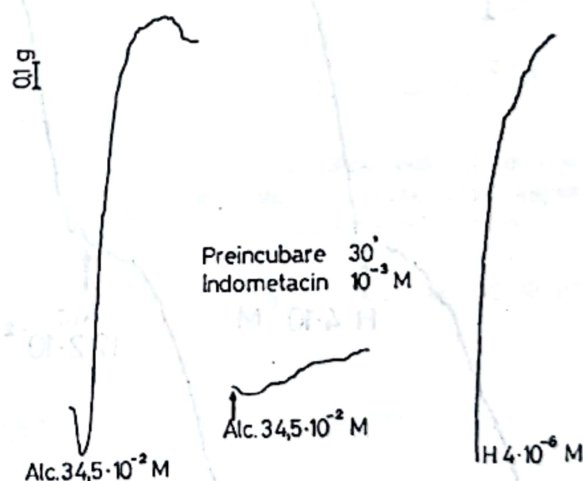


Fig. 7.4 – Preincubarea cu indometacin 10^{-3} M anulează contracția indusă de alcool

literatură care susţin posibilitatea de interferare complexă a alcoolului cu metabolismul eicosanoizilor.

De asemenea, s-au urmărit interrelaţiile posibile între acţiunea alcoolului şi contracţia la histamină sau acetilcolină. Dacă pe fondul contractil indus de histamină (4.10^{-6} M) sau acetilcolină (10^{-7} M) sau Cl_2Ba (2.10^{-3} M) se adaugă alcool în baie, acesta nu modifică contracţia până la concentraţia de 4,14.10^{-2} M, iar la concentraţii mai mari nu există o potenţare a efectelor lor, ci acestea se însumează. Acelaşi efect se constată şi prin adăugarea histaminei sau acetilcolinei pe fondul contractil indus de alcool (vezi **fig. 7/5**).

Se poate, deci, concluziona că nu există nici un efect de potenţare de către etanol a contracţiei la histamină sau acetilcolină.

Alte experienţe au avut drept scop urmărirea unor posibile interrelaţii între acţiunea alcoolului şi mediaţia colinergică, respectiv adrenergică. Astfel s-au studiat efectele alcoolului după tripla blocare: cu atropină (blocant neselectiv al receptorilor muscarinici M_1 şi M_2), propranolol (blocant neselectiv β-adrenergic) şi tolazolin (blocant neselectiv α-adrenergic). Preincubarea 30 de minute cu una din aceste substanţe sau cu toate trei, în concentraţii fiecare între 10^{-5} M şi 10^{-4} M nu modifică răspunsul contractil la alcool.

Se poate concluziona că blocarea colinergică sau adrenergică nu influenţează contracţia la alcool (vezi **fig. 7/6**).

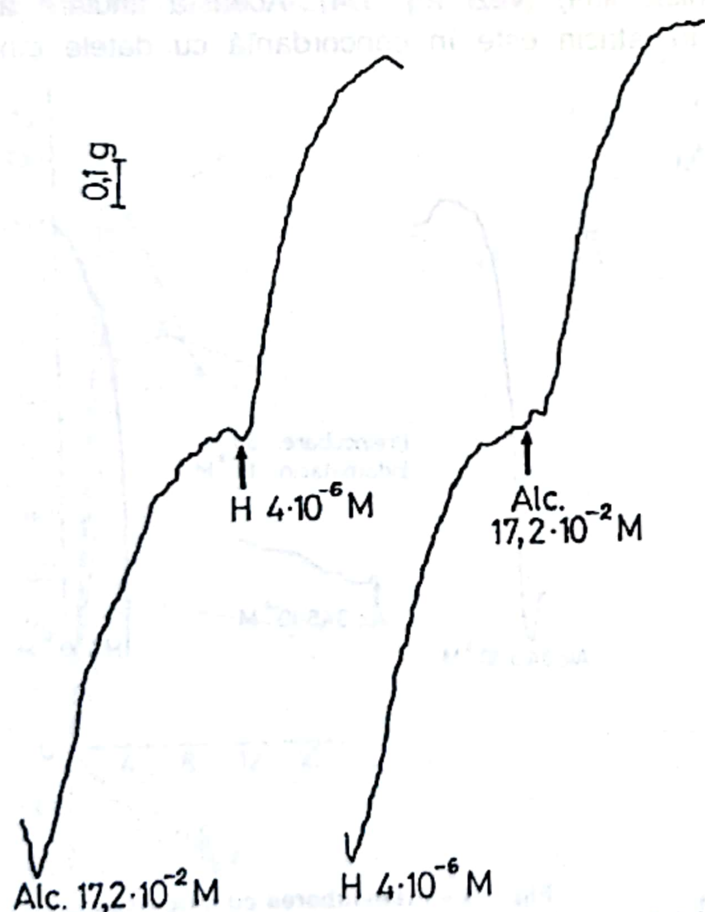


Fig. 7.5 – Însumarea efectelor contractile ale alcoolului şi histaminei

7.2. Influenţa blocantelor canalelor de calciu asupra tonusului bronhomotor

Contracţia musculaturii netede a căilor respiratorii, eliberarea de mediatori, secreţia glandelor mucoase, activitatea reflexă colinergică – fenomene implicate în hiperreactivitatea bronşică – sunt, toate, calciu

dependente. Pentru reducerea disponibilității intracelulare a calciului, diferite cercetări au urmărit rolul blocantelor canalelor de calciu (BCCa) în profilaxia și tratamentul astmului bronșic.

În acest sens, s-a urmărit experimental, pe traheea izolată de cobai, acțiunea comparativă a nifedipinei și verapamilului ca blocante ale canalelor de calciu, de reducere, respectiv prevenire, a contracției la Cl_2Ba, ClK, histamină și acetilcolină (SCHNEIDER FR., 1991; PETROIU A., 1993, 1994 b, 1996).

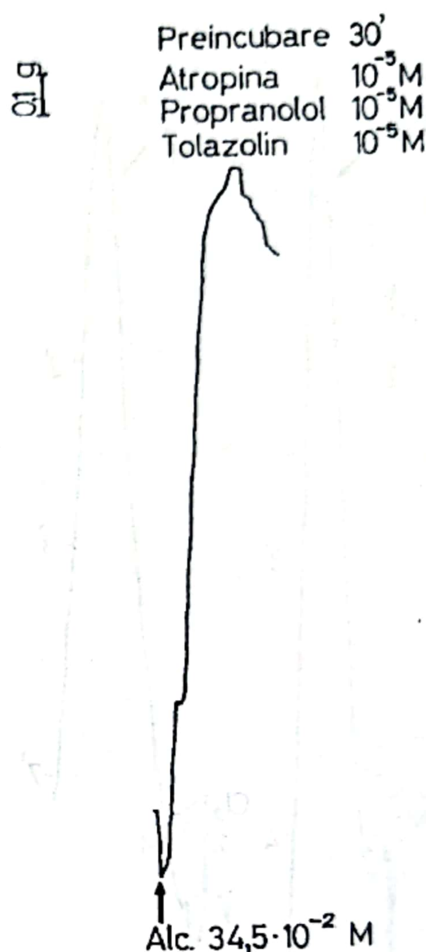


Fig. 7.6 –Blocarea colinergică și adrenergică nu modifică răspunsul contractil la alcool

7.2.1. Efectul nifedipinei de reducere a contracției induse de Cl_2Ba

Efectul relaxant al nifedipinei (2.10^{-6} M; 4.10^{-6} M) pe fond de contracție indusă de Cl_2Ba în concentrație de 5.10^{-3} M, 10^{-2} M și 4.10^{-2} M, se instalează după o latență de aproximativ două minute și relaxarea este de 100% în 4–10 minute, efectul fiind mai rapid în primele două minute (vezi **fig. 7/7**).

7.2.2. Acțiunea nifedipinei asupra contracției induse de ClK

Nifedipina, în concentrații mici (2.10^{-6} M) anulează contracția la ClK (3.10^{-2} M) (vezi **fig. 7/8**).

Efectul relaxant este asemănător cu cel observat asupra contracției determinate de Cl_2Ba.

7.2.3. Acțiunea comparativă a nifedipinei și verapamilului de reducere a contracției la histamină și acetilcolină

7.2.3.1. Acțiunea nifedipinei de reducere a contracției la acetilcolină

Pe fondul contracției determinate de acetilcolină (2.10^{-7} M), s-au utilizat concentrații crescânde de nifedipină – 10^{-5} M; 5.10^{-5} M; 10^{-4} M.

Efectul de anulare a contracției este mult mai lent comparativ cu cel asupra contracției la Cl_2Ba și ClK. La 30 minute relaxarea este de 85% la concentrația nifedipinei de 10^{-5} M; de 100% la 5.10^{-5} M și tot de 100%, dar în 20 minute, la

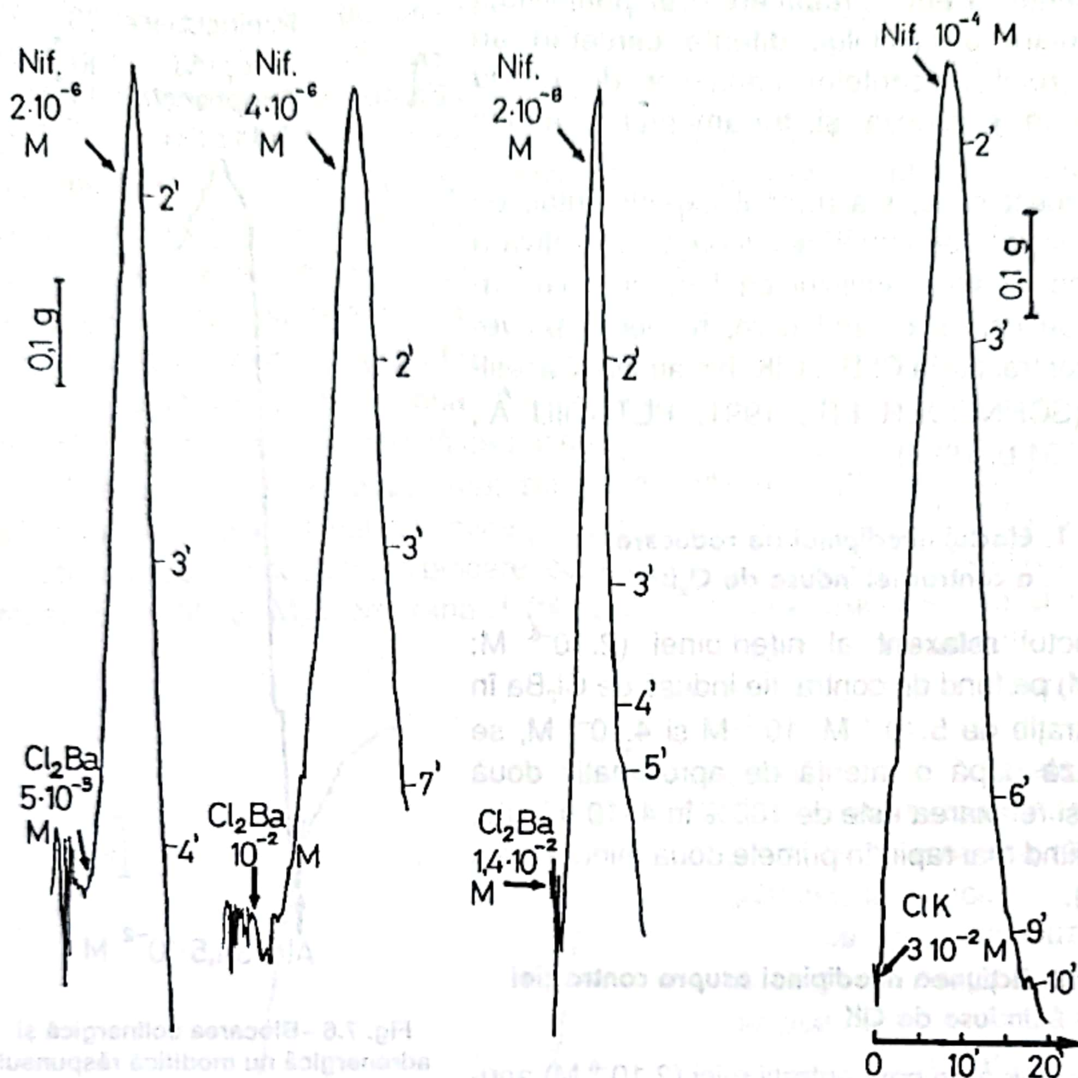


Fig. 7.7 –Efectul nifedipinei de reducere a contracţiei induse de $BaCl_2$

Fig. 7.8 – Efectul nifedipinei de reducere a contracţiei induse de KCl

concentraţia de 10^{-4} M. După spălare, preparatul răspunde din nou la acetilcolină, cu o amplitudine asemănătoare celei iniţiale.

Deci, nifedipina anulează sau reduce, în mare măsură, contracţia determinată de acetilcolină (vezi **fig. 7/9**).

7.2.3.2. Acţiunea verapamilului de reducere a contracţiei la acetilcolină

Verapamilul (5.10^{-6} M) anulează 100% contracţia la acetilcolină (10^{-6} M) în 18 minute, după care, adaosul repetat de acetilcolină, chiar în exces de calciu, nu determină contracţie, sau contracţia este mult mai redusă, aspect ce se poate explica prin locusul diferit de legare în canalul de calciu al verapamilului faţă de nifedipină.

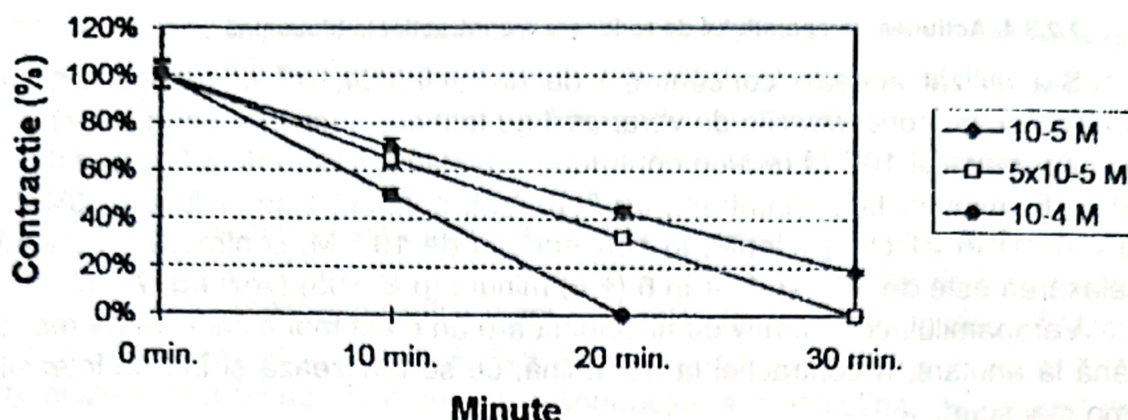
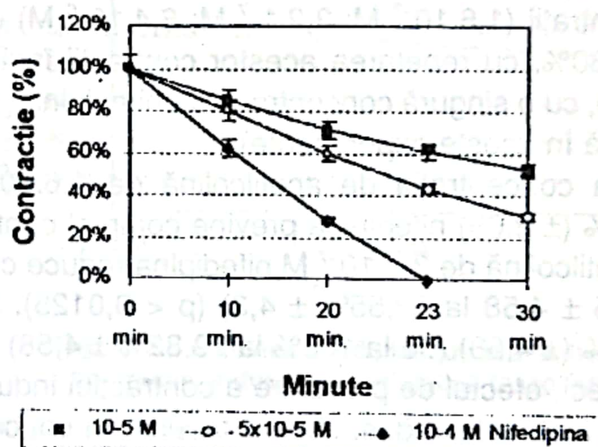


Fig. 7.9 – Acţiunea nifedipinei (la diferite concentraţii) de reducere a contracţiei la acetilcolină (în concentraţie constantă de $2x10^{-7}$M)

7.2.3.3. Acţiunea nifedipinei de reducere a contracţiei la histamină



Pentru inducerea contracţiei, s-a utilizat o doză constantă de histamină 4.10^{-5} M, iar pentru reducerea acestei contracţii, s-au folosit concentraţii crescânde de nifedipină (10^{-5} M; 5.10^{-5} M; 10^{-4} M).

Contracţia indusă de histamină 4.10^{-5} M, este redusă la nifedipină, la concentraţia de 10^{-5} M, la 53% (± 10) în 30 minute; la concentraţia de 5.10^{-5} M, la 33% (± 7), tot în 30 minute; la concentraţia de 10^{-4} M, relaxarea este de 100%, în 24 minute (± 1) (vezi **fig. 7/10**).

Se poate observa că nifedipina reduce semnificativ ($p < 0, 05$-$p < 0,01$) contracţia la histamină, reducere ce este mai accentuată şi într-un timp mai scurt, o dată cu creşterea concentraţiei.

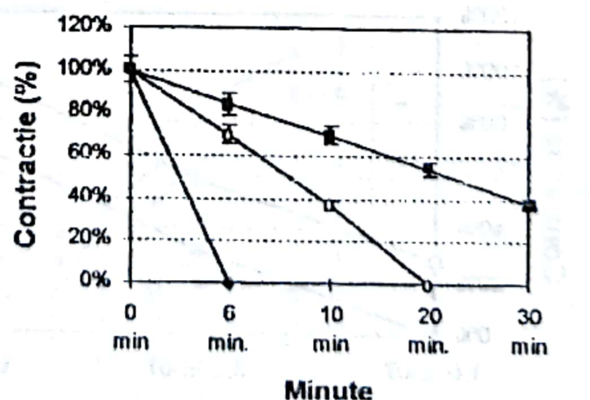


Fig. 7.10 – Acţiunea comparativă a nifedipinei şi verapamilului de reducere a contracţiei induse de histamină

7.2.3.4. Acțiunea verapamilului de reducere a contracției la histamină

S-a utilizat aceeași concentrație de histamină (4.10^{-5} M) pentru inducerea contracției, iar concentrațiile de verapamil au fost aceleași cu ale nifedipinei.

Verapamilul 10^{-5} M reduce contracția la histamină la 37% (± 20) ($p < 0,05$) în 30 (± 6) minute; la concentrația de 5.10^{-5} M, contracția se reduce la 3% (± 6) ($p < 0,01$) în 21 (± 9) minute; la concentrația de 10^{-4} M, contracția este anulată (relaxarea este de 100%) doar în 6 (± 6) minute ($p < 0,05$) (vezi **fig. 7/10**).

Verapamilul, comparativ cu nifedipina are un efect mai accentuat de reducere până la anulare, a contracției la histamină, ce se realizează și într-un interval de timp mai scurt.

7.2.3.5. Acțiunea nifedipinei de prevenire a contracției la acetilcolină

a) După determinarea relației doză-efect la acetilcolină s-au ales trei concentrații ($1,6.10^{-7}$ M; $3,2.1^{-7}$ M; $6,4.10^{-6}$ M) care dau contracții, în medie, între 25 și 80%, cu repetarea acestor contracții înainte și după incubarea timp de 10 minute, cu o singură concentrație de nifedipină (10^{-4} M) (cea mai mare concentrație utilizată în aceste experimente).

La concentrația de acetilcolină de $1,6.10^{-7}$ M ce reprezintă contracție de 27,37% (± 2,09) nifedipina previne complet contracția ($p < 0,025$). La concentrația de acetilcolină de $3,2.10^{-7}$ M nifedipina reduce contracția cu 24,99% (± 3,44) (de la 57,555 ± 4,58 la 32,55% ± 4,3) ($p < 0,0125$). La concentrația de $6,4.10^{-6}$ M, cu 26,18% (± 4,58) (de la 100% la 73,82% ± 4,58) ($p < 0,0025$) (vezi **fig. 7/11**).

Deci, efectul de prevenire a contracției induse de acetilcolină în cadrul relației doză-efect, este redus, aspect ce este în concordanță cu date din literatură care relevă că efectul relaxant al nifedipinei este mai accentuat în caz de precontracție la diverși agenți bronhoconstrictori, decât de prevenire a ei.

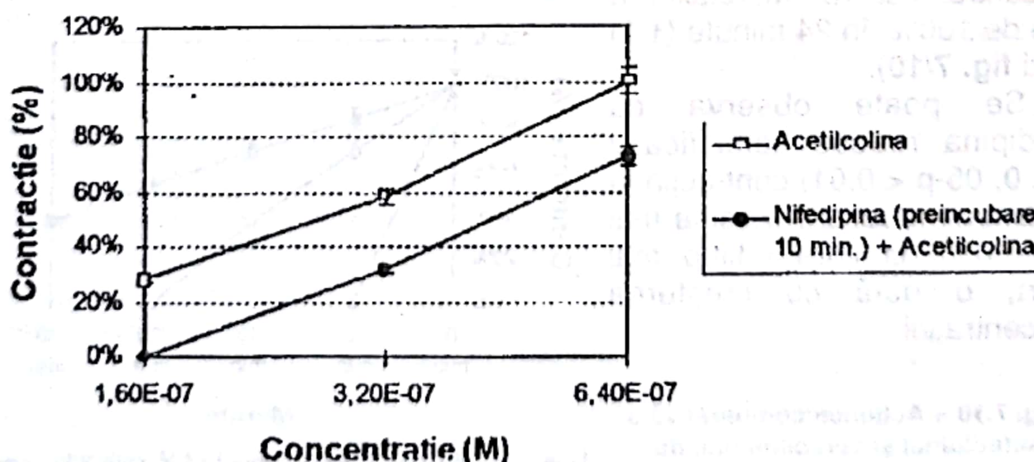


Fig. 7.11 – Acțiunea nifedipinei de prevenire a contracției la acetilcolină

b) Un alt tip de experiment a constat în utilizarea unei concentrații constante de acetilcolină (2.10^{-7} M) și urmărirea efectului contractil (reprezentând 100%) până atinge nivelul maxim (aceasta se realizează în aproximativ 7 minute). Apoi, repetarea contracției la aceeași concentrație de acetilcolină, după incubarea prealabilă cu o concentrație crescândă de nifedipină.

Concentrația de nifedipină de 10^{-5} M scade contracția la acetilcolină doar cu 2,48% (± 1,99) (de la 100% la 97,5%) (± 1,98) ($p < 0,01$); concentrația de 5.10^{-5} M cu 7,84% (± 2,8) (de la 100% la 92,155 ± 2,76) ($p < 0,01$), iar concentrația de 10^{-4} M, cu 17,23% (± 3,44) (de la 100% la 82,63% ± 3,64) ($p < 0,005$) (vezi **fig. 7/12**).

Nifedipina deci reduce în mare parte contracția la acetilcolină, dar efectul de prevenire a contracției este foarte redus.

7.2.3.6. Acțiunea nifedipinei de prevenire a contracției la histamină

a) S-a determinat relația doză-efect la histamină, între concentrațiile de 4.10^{-6} M și 5.10^{-4} M. Apoi s-a repetat curba doză-efect cu aceleași concentrații de histamină, după incubare prealabilă, de fiecare dată, cu nifedipină, 10^{-4} M, timp de 10 minute.

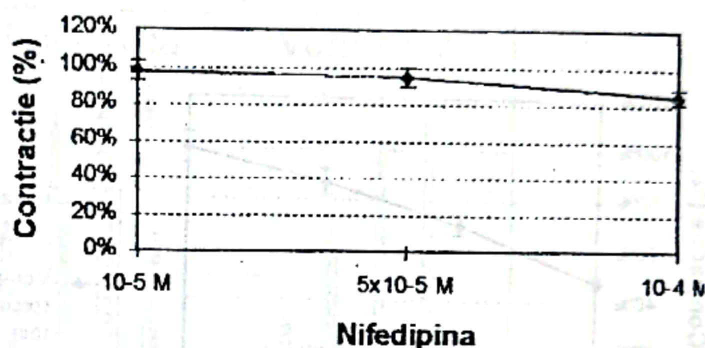


Fig. 7.12 – Acțiunea nifedipinei de prevenire a contracției induse de acetilcolină (2x10^{-7}M)

Se constată că nifedipina, deși semnificativ (p între: $p < 0,05$ – $p < 0,001$) previne în mică măsură contracția la histamină (vezi **fig. 7/13**).

b) Ca și în cazul acetilcolinei, s-a utilizat și varianta cu o concentrație constantă de histamină (10^{-4} M) și urmărirea efectului contractil până atinge nivelul maxim (acesta se realizează în aproximativ șapte minute). Apoi se repetă contracția la aceeași concentrație de histamină după incubarea prealabilă cu concentrații crescânde de nifedipină (aceleași folosite în toate experimentele).

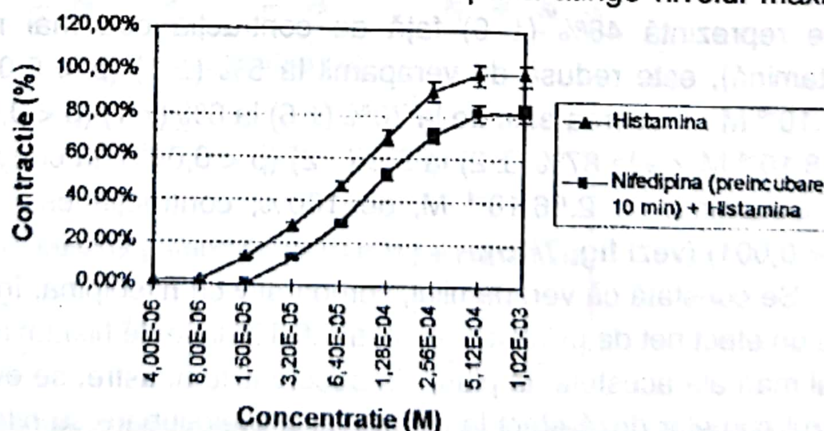


Fig. 7.13 – Acțiunea nifedipinei de prevenire a contracției la histamină

La concentrația de nifedipină de 10^{-5} M se

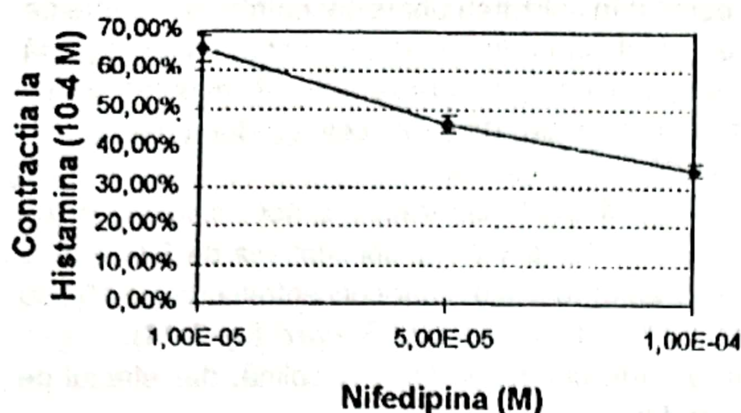


Fig. 7.14 – Acţiunea nifedipinei de prevenire a contracţiei induse de histamină

reduce contracţia la histamină cu 34,4% (± 4,67) ($p < 0,0025$); la concentraţia 5.10^{-5} M cu 53,8% (± 4,2) ($p < 0,001$); la concentraţia de 10^{-4} M cu 65,7% (± 6,41) ($p < 0,0025$) (vezi **fig. 7/14**)

7.2.3.7. Acţiunea verapamilului de prevenire a contracţiei la histamină

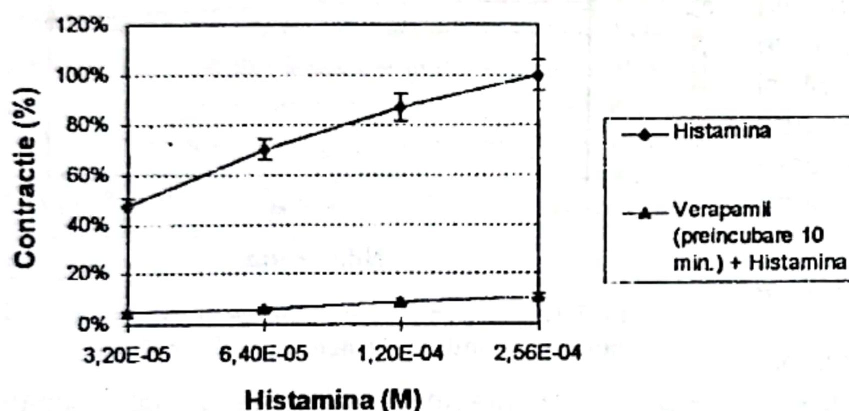


Fig. 7.15 – Acţiunea verapamilului de prevenire a contracţiei la histamină

S-a determinat relaţia doză-efect la histamină, la concentraţii între $3,2.10^{-5}$ M şi $2,5.10^{-4}$ M. Apoi s-au repetat aceleaşi concentraţii de histamină după incubare prealabilă, de fiecare dată, cu verapamil 10^{-4} M (aceeaşi concentraţie ca şi în cazul utilizării nifedipinei).

La concentraţia de histamină de $3,2.10^{-5}$ M, contracţia, care reprezintă 48% (± 6) faţă de contracţia cea mai mare (la $2,56.10^{-4}$ M histamină), este redusă de verapamil la 5% (± 1) ($p < 0,05$); la concentraţia de $6,4.10^{-5}$ M reducerea este de la 70% (± 6) la 6% (± 1) ($p < 0,01$); la concentraţia de $1,28.10^{-4}$ M, de la 87% (± 2) la 9% (± 2) ($p < 0,001$); la concentraţia cea mai mare de histamină, de $2,56.10^{-4}$ M, de 100%, contracţia este redusă la 11% (± 1) ($p < 0,001$) (vezi **fig. 7/15**).

Se constată că verapamilul, comparativ cu nifedipina, în aceeaşi concentraţie, are un efect net de prevenire a contracţiei induse de histamină, chiar la concentraţii mai mari ale acesteia. În plus, din observaţiile noastre, se evidenţiază faptul că, în cazul curbelor doză-efect la histamină şi preincubare cu nifedipină sau verapamil, există diferenţe între aceste două blocante ale canalelor de calciu, după utilizarea lor repetată, privind răspunsul contractil la histamină.

În cazul nifedipinei, după spălări repetate, preparatul răspunde din nou la histamină cu o contracţie între 80 şi 100%, în timp ce, în cazul verapamilului, răspunsul la histamină este foarte mult redus (vezi **fig. 7/16**).

Aceste diferenţe confirmă datele din literatură că verapamilul, nu şi nifedipina, prezintă „dependenţă de folosire", ca reflectare a situsurilor de legare diferite în canalele lente de calciu şi a stării ionizate a verapamilului (RAEBURN D., 1985; NAYLER W. G., 1988; PETROIU A., 1994 b).

În rezumat, se poate concluziona că:

– Nifedipina reduce contracţia la acetilcolină sau histamină a musculaturii netede traheale de cobai, în funcţie de concentraţie. Efectul se instalează lent, anularea contracţiei realizându-se în 20–30 de minute doar la concentraţii mari de nifedipină.

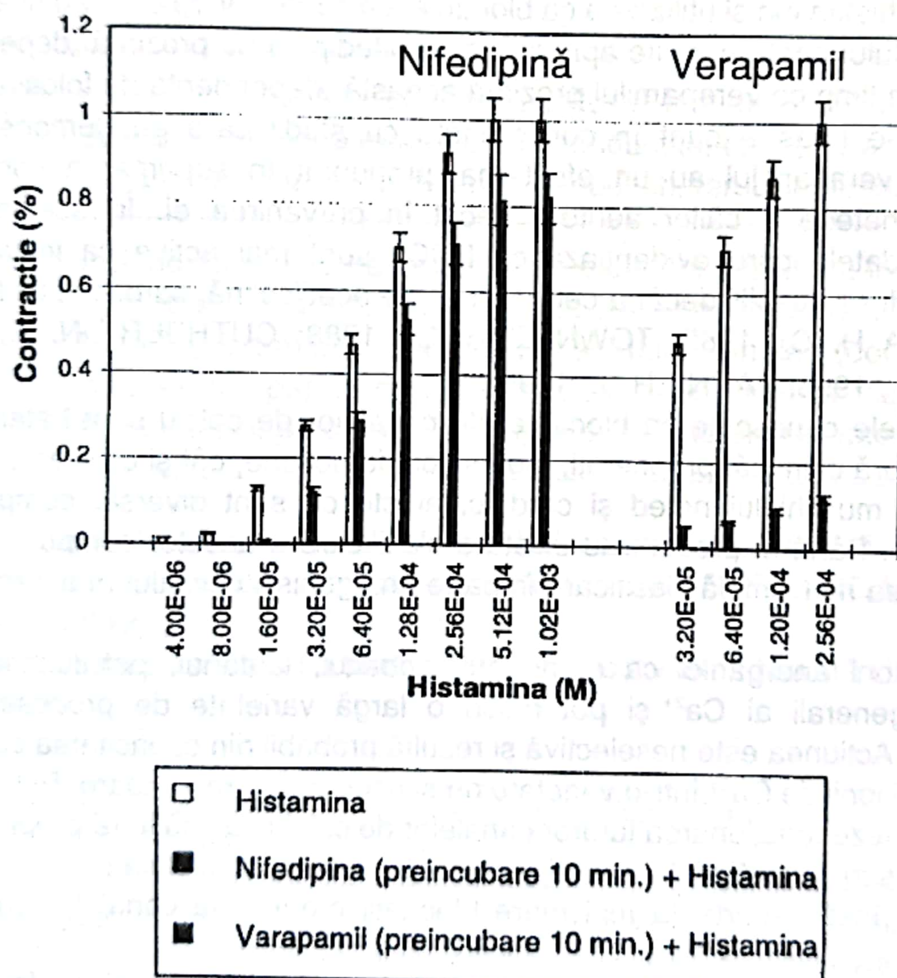


Fig. 7.16 – Efectul comparativ al nifedipinei şi verapamilului de prevenire a contracţiei la histamină



– Verapamilul are acelaşi efect asupra contracţiei la acetilcolină sau histamină, dar anularea contracţiei se realizează la concentraţii mai mici şi într-un timp mai scurt.

– Incubarea cu nifedipină previne doar în mică măsură contracţia la acetilcolină sau histamină. Deci nifedipina are efect mai exprimat de reducere a contracţiei decât de prevenire a ei.

– Efectul de prevenire a contracţiei la acetilcolină sau histamină de către verapamil este mult mai exprimat decât cel al nifedipinei.

– Nifedipina anulează rapid contracţia indusă de Cl_2Ba sau ClK, în concentraţii mult mai mici (2×10^{-6} M) decât cele necesare (10^{-4} M) pentru anularea contracţiei induse de acetilcolină sau histamină.

– Răspunsul contractil la utilizarea repetată de agenţi constrictori ca acetilcolina şi histamina şi utilizarea ca blocante ale canalelor de calciu a nifedipinei sau verapamilului poate permite aprecierea că nifedipina nu prezintă „dependenţă de folosire", în timp ce verapamilul prezintă această „dependenţă de folosire".

Rezultatele noastre sunt în concordanţă cu studii care au demonstrat că nifedipina şi verapamilul au un efect mai pronunţat în suprimarea contracţiei musculaturii netede a căilor aerifere decât în prevenirea ei. În acelaşi sens pledează şi datele care evidenţiază că BCCa sunt mai active ca inhibitori ai contracţiei induse de ClK decât a celei induse de acetilcolină, carbacol, histamină, LTD_4 (FANTA H. C., 1985; TOWNLEI R. G., 1988; CUTHBERT N. J., 1994; BAERSCH G., 1995; VANNIER C., 1995).

Substanţele cunoscute ca blocante ale canalelor de calciu sunt heterogene, atât ca structură chimică, proprietăţi, mod şi loc de acţiune, cât şi ca efecte asupra contractilităţii muşchiului neted şi cardiac, efecte ce sunt diverse, complexe şi controversate. Până în prezent nu există o clasificare a acestor compuşi unanim acceptată. Cea mai simplă clasificare împarte antagoniştii calciului în anorganici şi organici.

Unii cationi anorganici ca manganul, cobaltul, lantanul, pot funcţiona ca antagonişti generali ai Ca^{2+} şi pot bloca o largă varietate de procese calciu dependente. Acţiunea este neselectivă şi rezultă probabil din capacitatea cationilor de a substitui ionii de Ca^{2+} într-o varietate de situsuri calciu-receptoare. Este posibil ca ei să blocheze funcţionarea tuturor canalelor de calciu sau să intre propriu-zis în celulă, unde substituie Ca^{2+} la nivelul receptorilor calcici intracelulari.

Prezintă însă importanţă mai mare blocanţii organici ai canalelor de calciu (BCCa).

Până în prezent au fost propuse mai multe clasificări ale acestora, folosindu-se diferite criterii ca:

a) specificitatea pentru inhibiţia influxului de Ca^{2+};

b) natura chimică, incluzând structura de bază şi lipofilia;

c) selectivitatea tisulară;

d) sensibilitatea la salicilat;

e) specificitatea de legare la receptor (BURKE E., 1988; RAEBURN D., 1985; PETROIU A., 1994 b).

a) După specificitatea pentru inhibiția influxului de Ca^{2+}, Fleckenstein (citat de BURKE E., 1988; DUPUIS B. A., 1988) subîmparte inițial antagoniștii organici ai calciului în grupele A și B, la care ulterior, a adăugat și grupa C (vezi **tabelul nr. 1**).

Tabelul nr. 1

Grupa A:	include antagoniști ai calciului ce inhibă influxul lent de Ca^{2+} în proporție de 90–100%, fără vreo schimbare în curentul de Na^{+}, ca verapamil, diltiazem, nifedipină, nisoldipină, niludipină, nimodipină, felodipină, anipamil, desmetoxiverapamil, galopamil, nicardipină
Grupa B:	cuprinde substanțe ce inhibă influxul lent de Ca^{2+} în proporție de 50–70%, fără vreo modificare în conductanța Na^{+}, de exemplu bepridil, tiapamil, cinarizină, caroverină, proadifen, terodilin, fendilin, prenilamin
Grupa C:	include substanțe ce determină o oarecare inhibiție a influxului lent de Ca^{2+}, dar nu ca proprietate majoră, ca de exemplu diazepam, fenitoin, fenoxibenzamină; loperamidă și fluperamidă (doi inhibitori ai opiaceelor), papaverină și cromoglicat (inhibitori ai fosfodiesterazei), indometacin, propranolol (antagonist al β-adrenoreceptorilor)

b) După structura chimică, antagoniștii calciului se clasifică în patru grupe (prototipul subgrupei este subliniat) (BURKE E., 1988; SPEDDING M., 1984, 1985) (vezi **tabelul nr. 2**).

Și această clasificare nu ține seama de selectivitatea tisulară și de organ.

Tabelul nr. 2

Fenilalchilamine	Anipamil, desmetoxiverapamil, galopamil, ronipamil, terodilin, tiapamil, **verapamil**
Dihidropiridine	amlodipin, azodipin, dazodipin, felodipin, floridipin, iodipin, isradipin, nicardipin, **nifedipin,** niludipin, nimodipin, nisoldipin, nitrendipin
Benzotiazepine	**diltiazem,** fostedil
Difenilalchilamine	**cinarizin,** flunarizin, fendilin, prenilamin

Spedding (1984, 1985) a propus o altă clasificare chimică bazată pe diferența de lipofilie, exprimată prin R1 (R1 reprezintă o măsură a lipofiliei – cu cât numărul este mai mare, cu atât lipofilia este mai mare (vezi **tabelul nr. 3**).

Tabelul nr. 3

Clasa I	R1 = 0,45 – 0,58, cuprinde toate dihidropiridinele, de exemplu nifedipina, nimodipina, dazodipina, nitrendipina, nisoldipina
Clasa II	R1 = 0,32 – 0,33, de exemplu verapamil, diltiazem (substanțe cu structură chimică diferită, dar cu profil farmacologic similar)
Clasa III	R1 = 0,12 – 0,25, cuprinde difenoxialchilaminale, de exemplu fendilina, lidoflazina, perhexilina, cinarizina, prenilamina, flunarizina

c) Selectivitatea tisulară. Una din proprietățile antagoniștilor calciului este selectivitatea tisulară. De exemplu, dihidropiridinele acționează preferențial asupra musculaturii netede vasculare, fenilalchilaminele (verapamil, galopamil, anipamil) și benzotiazepinele (diltiazemul) au o acțiune aproximativ egală asupra miocardului, conductibilității atrio-ventriculare și vasculare (NAYLER W. G., 1988). Nisoldipina, cu efect de durată, acționează preferențial asupra vaselor coronare, iar nimodipina, asupra vaselor cerebrale; musculatura netedă de la nivelul arterelor este mai sensibilă decât cea de la nivelul venelor (BRAUNWALD E., 1982); fibrele musculare scheletice, fibrele musculare netede traheo-bronșice și neuronii sunt relativ insensibile.

Diferențierea în selectivitatea tisulară se poate datora în diferențele privind sursa de Ca^{2+}, ce mediază cuplarea excitație-contracție, modalitatea prin care agonistul provoacă influxul de Ca^{2+}, profilul chimic al antagonistului, în particular hidrofilia și lipofilia, gradul ionizării (de exemplu verapamilul, nu și nimodipina, este parțial ionizat, în timp ce nimodipina, nu și verapamilul, este înalt liposolubilă); diferența în densitatea, starea, distribuția și tipul canalelor de calciu voltaj dependente și cele receptor-operante, potențialul transmembranar de repaus (TOWNLEI R. G., 1988; NAYLER W. G., 1988; PETROIU A., 1991; SCHNEIDER F., 1991).

Comparativ cu musculatura netedă vasculară, și musculatura traheo-bronșică este relativ insensibilă la antagoniștii Ca^{2+}, ce se poate explica prin dependența contracției, în principal, de surse extracelulare de Ca^{2+}, de raportul între canalele calcice dependente de voltaj și cele receptor operante, în favoarea acestora din urmă, de eliberarea Ca^{2+} din depozitele interne adeseori pe calea 1, 4, 5-trifosfatului de inozitol (canalele receptor operante și eliberarea Ca^{2+} din depozitele interne sunt relativ insensibile la antagoniștii calciului).

Ca o regulă generală, sensibilitatea oricărui mușchi la antagoniști ai calciului va fi invers proporțională cu cantitatea de Ca^{2+} ce intră printr-o altă cale decât canalele

voltaj-dependente de tip L, cum ar fi canalele receptor operante, difuziunea pasivă și schimbul cu Na^+.

d) Sensibilitatea la salicilat. Folosind salicilat pentru schimbarea potențialului transmembranar, SPEDDING (1984, 1985) constată că acesta potențează efectul inhibitor al difenilalchilaminelor (cinarizină, flunarizină), îl reduce pe cel al verapamilului și diltiazemului și nu-l modifică pe cel al dihidropiridinelor. Acest criteriu poate fi folosit pentru o subclasificare, asemănătoare cu cea bazată pe lipofilie.

e) Specificitatea legării la receptor. Diferitele clase de antagoniști ai calciului acționează în locuri specifice din canal pentru legarea lor. Există mai multe situsuri de legare a antagoniștilor calciului, ce sunt proteine, care pot fi constituite din mai multe subunități și care par a fi asociate cu fosfolipide membranare.

Dihidropiridinele acționează la nivelul porțiunii externe a canalului, în timp ce verapamilul, galopamilul, acționează pe un situs situat în canal către interiorul membranei celulare. Acești din urmă compuși trebuie să străbată membrana celulară înainte de a acționa (RAEBURN D., 1985; TOWNLEI R. G., 1988; NAYLER W. G., 1988).

Accesul în lumenul canalului este favorizat și de starea de ionizare a antagonistului și doar când canalul este deschis (NAYLER W. G., 1988).

Pe baza structurii canalelor calcice voltaj dependente, s-a putut stabili că responsabilă de situsurile receptoare pentru marile familii de antagoniști calcici este subunitatea transmembranară α_1 (FOSSET M., 1983).

Situsurile de fixare a dihidropiridinelor se situează la nivelul segmentelor SS_1 – SS_2 și S_6 a domeniului IV (TANG S., 1993).

Pentru verapamil, situsul de fixare este localizat la nivelul părții carboxilice ce continuă segmentul S_6 (CATTERALL W. A., 1993).

În fixarea diltiazemului intervin acizi aminați aparținând segmentului SS_1 al domeniului IV.

Legarea unui antagonist pentru calciu de locul său specific poate influența legarea altei clase de antagoniști.

În funcție de interacțiunea antagoniștilor calciului cu locurile specifice de legare a lor, folosind proprietățile de legare a dihidropiridinelor ca un standard primar, Glossman (citat de BURKE E., 1988) a diferențiat trei clase:

- **Clasa I** – dihidropiridinele
- **Clasa II** – fenilalchilaminele, incluzând verapamilul, anipamilul, antagoniști ai calciului ce interacționează cu situsurile de legare pentru dihidropiridine și le reduce capacitatea de legare a lor – reglare alosterică heterotipică negativă.
- **Clasa III** – în care sunt incluși compuși ca diltiazemul, benciclanul, ce cresc capacitatea de legare a dihidropiridinelor – reglare alosterică heterotipică pozitivă.

Un alt criteriu al diferențierii blocantelor canalelor de calciu este cel al „dependenței de folosire" (SPEDDING M., 1984, 1985; SCHNEIDER F., 1991; PETROIU A., 1994 b) deosebindu-se:

a) Antagoniști ce prezintă dependență de folosire: la o stimulare repetată, ca în cazul determinării curbelor doză-efect pentru unele substanțe constrictoare, la un țesut *in vitro,* un antagonist al calciului care prezintă dependență de folosire, va induce un grad din ce în ce mai mare de inhibiție, până ce își atinge efectul său maxim. Deci, canalul de calciu trebuie să fie activat (deschis) de către un agonist pentru ca antagonistul să acționeze. În această manieră acționează diltiazemul și verapamilul.

RAEBURN și colab. (1985) au demonstrat o dependență de folosire pentru verapamil și la mușchiul neted al căilor aerifere. Verapamilul a avut un efect mai slab asupra țesutului contractat cu o concentrație maximă de bronhoconstrictor față de aceeași concentrație de agent aplicată prin adiție secvențială a concentrațiilor mai mici.

b) Antagoniști ce nu prezintă dependență de folosire, efectul fiind independent de „starea" canalului de calciu. Din acest grup fac parte dihidropiridinele.

Aceste aspecte pot fi asociate cu acțiunea diferitelor clase de antagoniști ai calciului în locuri diferite din canal și de starea de ionizare a acestora. Au fost propuse și alte clasificări, dar care sunt incomplete, adăugând puțin la clasificările existente anterior.

Au fost studiate numeroase blocante organice ale canalelor de calciu asupra musculaturii netede traheo-bronșice în condiții experimentale, cât și în profilaxia și tratamentul astmului bronșic, cum ar fi: nifedipina, nicardipina, nitrendipina, nisoldipina – din clasa dihidropiridinelor; verapamilul, prototipul fenilalchilaminelor; diltiazemul, din clasa benzotiazepine; sau cinarizina, prenilamina – din clasa difenilalchilamine. În unele studii au fost folosiți și blocanți anorganici ca $MgSO_4$ sau cadmiu.

Blocantele canalelor de calciu (BCCa) acționează, în principal, asupra canalelor de calciu voltaj dependente (canalele L fiind mult mai sensibile decât T) și decuplează electromecanic mușchiul (RAEBURN D., 1985; PETROIU A., 1993; TOWNLEI R. G., 1988; NAYLER N. G., 1988).

Pentru blocarea canalelor receptor-operante, concentrația BCCa este mare și nu poate să fie atinsă în uzul clinic.

Efectele diferă *in vitro* și *in vivo.*

Comparativ cu musculatura netedă vasculară, musculatura traheo-bronșică este mai puțin sensibilă la BCCa, ce se poate explica prin raportul între canalele de calciu dependente de voltaj și cele operate de receptori, în favoarea acestora din urmă, ca și eliberarea Ca^{2+} din depozitele interne prin inozitoltrifosfat (IP_3). În

general, sensibilitatea oricărui muşchi la BCCa va fi invers proporţională cu cantitatea de Ca^{2+} ce intră printr-o altă cale decât canalele voltaj dependente de tip L.

HIMORI şi colab. (1980), studiind efectele antagoniştilor de calciu, nifedipină şi verapamil, asupra musculaturii traheale şi vasculare la câini, au găsit că aceştia produc vasodilataţie traheală şi dilataţie traheală.

Dar, pe când izoprenalina are efecte similare asupra ambelor ţesuturi, nifedipina şi verapamilul sunt mai puţin eficace în producerea dilataţiei traheale decât a vasodilataţiei traheale. Aceste rezultate sugerează că pentru menţinerea tonusului, muşchiul neted vascular utilizează mai mult influxul transmembranar de Ca^{2+} decât muşchiul neted traheal.

Diverse studii *in vitro* au demonstrat că nifedipina şi verapamilul relaxează muşchiul neted traheal de cobai, şobolan, câine şi trahee umană.

Efectul inhibitor a fost evidenţiat pentru contracţia cu K^{+}, acetilcolină, carbacol, histamină, serotonină, PGF_2, LTD_4 (FANTA M. C., 1985; TOWNLEI R. G., 1988; CHANG K. C., 1993).

Nifedipina şi verapamilul au fost mult mai eficace în blocarea contracţiei traheei realizată de KCl, decât contracţia indusă de LTD_4, în timp ce TMB_8, un antagonist de calciu presupus a acţiona intracelular, a antagonizat complet contracţia indusă de LTD_4 (TOWNLEI R. G., 1988).

Într-un studiu raportat de CERRINA (1983) sunt prezentate efectele a patru antagonişti diferiţi ai calciului: verapamil, diltiazem, bepridil şi nicardipină, asupra contracţiei traheei izolate de cobai indusă de acetilcolină (Ach) histamină, 5-hidroxitriptamină (5-HT), LTD_4 şi agenţi nefiziologici – Cl_2Ba, ClK, tetraetilamoniu (TEA) şi Cl_2Ca.

Eficacitatea agoniştilor în producerea contracţiei a fost:

$$LTD_4 > Ach > 5\text{-}HT > Hist > Cl_2Ba > TEA > ClK$$

Eficacitatea agoniştilor fiziologici a fost numai moderat diminuată în soluţie fără Ca^{2+}, în timp ce răspunsul la agonişti nespecifici a scăzut mult. Diltiazemul şi verapamilul au redus tonusul bazal la concentraţii mai mari decât 10^{-4} M.

Antagoniştii studiaţi au avut un efect important asupra agoniştilor nefiziologici în comparaţie cu cei fiziologici. Contracţiile la Ach au fost rezistente la depleţia de Ca^{2+} chiar şi în prezenţă de EDTA, sugerând un rol predominant al Ca^{2+} intracelular în mecanismul contractil.

Există mari diferenţe, activitatea BCCa depinzând de agentul contractil şi de antagonistul de Ca^{2+} testat. La concentraţii scăzute au inhibat selectiv agoniştii nefiziologici (TEA, Cl_2Ba, ClK), iar la concentraţii mai mari de 10^{-5} M au inhibat şi agoniştii fiziologici. O astfel de inhibiţie selectivă nu a fost găsită la teofilină. Aceste

rezultate sugerează că antagoniştii Ca^{2+} acţionează pe căi diferite când se modifică concentraţia lor. La concentraţii scăzute ei pot acţiona selectiv asupra intrării transmembranare de Ca^{2+}, dar dacă concentraţiile lor cresc pot deprima şi mişcarea intracelulară a Ca^{2+}.

Contracţia muşchiului neted traheal de câine la doze scăzute de Ach este inhibată de verapamil şi sugerează că aceste contracţii sunt produse primar de influxul transmembranar de Ca^{2+}. În contrast, contracţiile produse prin concentraţii crescute de Ach sunt complet rezistente la antagonişti ai calciului (COBURN, FARLEY, citaţi de HIMORI, 1980).

De asemenea, studiul lui CHANG şi colab. (1993) arată că verapamilul şi preparatul GS283 în concentraţii mari abolesc complet contracţia fazică indusă de carbacol, pe trahee izolată de cobai în mediu lipsit de calciu, sugerând că aceste preparate ar putea intra în citoplasmă, unde să exercite acţiuni secundare asupra depozitelor intra-celulare.

Într-un studiu comparativ *in vitro,* pe trahee de cobai, depolarizată de K^+ crescut în mediu şi contractată de Ca^{2+}, utilizând verapamil, cinarizină trifluoperazină, acestea antagonizează contracţia de tip doză-efect, cu deplasarea curbei la dreapta şi în jos, ordinea eficienţei fiind:

verapamil > cinarizină > trifluoperazină

Dar dacă traheea este denudată, efectele arată că acţiunea verapamilului se limitează la membrana celulară, în timp ce cinarizina şi trifluoperazina acţionează atât pe membrana celulară, cât şi asupra mecanismului contractil intracelular (CORTIGO J., 1990).

Un alt studiu (BEAN-HARARI, 1992) urmăreşte efectele comparative ale nicardipinei, diltiazemului şi verapamilului asupra contracţiei induse de carbacol şi ClK, pe trahee izolată de cobai. Eficienţa în abolirea sau reducerea parţială a contracţiei, în funcţie de concentraţie, este:

nicardipină > verapamil > diltiazem

Un alt blocant al canalelor de calciu folosit este nisoldipina.

În culturi de celule bronşice de şobolan şi traheo-bronşice umane (musculatură netedă), prin tehnica de *patch-clamp,* s-au identificat şi caracterizat canale de calciu voltaj-dependente. Datele rezultate sugerează că activarea canalelor de calciu voltaj-dependente poate influenţa contractilitatea căilor aerifere şi că dihidropiridinele (nisoldipina) ar putea fi modulatori eficienţi ai creşterii tonusului bronşic indus prin depolarizare. Se concluzionează că atât celulele de şobolan, cât şi cele umane au canale de calciu voltaj-dependente de mare conductanţă ce

interacţionează de manieră predictibilă cu dihidropiridinele şi sunt similare cu canalele de calciu din alte celule musculare netede (WARLEY J. F., 1990).

Pe bronhii de şobolan, s-a investigat rolul canalelor de calciu voltaj dependente în contracţia indusă de carbacol. Depolarizarea membranei şi administrarea de BAY K 3644, un deschizător al canalelor de calciu, determină creşterea semnificativă a efectului contractil. Nisoldipina inhibă semnificativ contracţia, iar abolirea ei completă o realizează cadmiul, un blocant anorganic al canalelor de calciu. Rezultatele arată că în contracţia colinergică intervin canalele de calciu voltaj-dependente.

Cercetările ulterioare au stabilit că mecanismul prin care agenţii colinergici deschid aceste canale în musculatura netedă bronşică se realizează prin deplasarea curbei de activare în direcţia hiperpolarizării membranei (KAMISHIMA I., 1992).

Un alt blocant anorganic cercetat a fost $MgSO_4$, frecvent folosit în clinică, dar fără să se cunoască mecanismul de acţiune. Pentru a investiga efectele sale, s-au comparat rezultatele pe muşchiul traheal şi bronşic de porc, prin contracţie cu carbacol sau ClK şi măsurarea efectelor $MgSO_4$ asupra concentraţiei intracelulare a Ca^{2+}. $MgSO_4$ preincubat în concentraţii crescânde, determină o reducere dependentă de doză a curbei contractile la ClK, dar nu şi la carbacol. Administrat însă pe fond contractil, are efect relaxant şi pentru ClK şi pentru carbacol, cu scăderea concomitentă a Ca^{2+} intracelular. Acestea arată că $MgSO_4$ relaxează direct musculatura căilor aerifere printr-un mecanism ce implică scăderea Ca^{2+} intracelular, probabil prin scăderea intrării de calciu prin canale voltaj dependente (KUMASAKA D., 1996).

7.3. Efectul relaxant al catecolaminelor

Studiul a avut drept obiectiv compararea efectelor relaxante ale catecolaminelor asupra muşchiului neted traheal contractat cu histamină, înregistrând contracţia izometrică a unor spirale de trahee de cobai.

S-a urmărit:

– Efectul ***adrenalinei*** în doze de 2.10^{-7}, 4.10^{-7}, 6.10^{-7}, 8.10^{-7}, 10^{-6} M, pe preparatul contractat cu histamină 8.10^{-6} M.

– Efectul ***noradrenalinei*** în doze de $0,5.10^{-5}$, 10^{-5}, 2.10^{-5} M, pe fond de contracţie cu histamină 10^{-6} M, cât şi pe preparatul în repaus.

– Efectul ***dopaminei*** în doze de 10^{-4}, 2.10^{-4}, 4.10^{-4}, 8.10^{-4} M, asupra muşchiului traheal de cobai contractat cu histamină.

Substanţele de cercetat au fost adăugate în baia de organ izolat, iar după fiecare doză utilizată s-a efectuat spălarea preparatului cu lichid fiziologic.

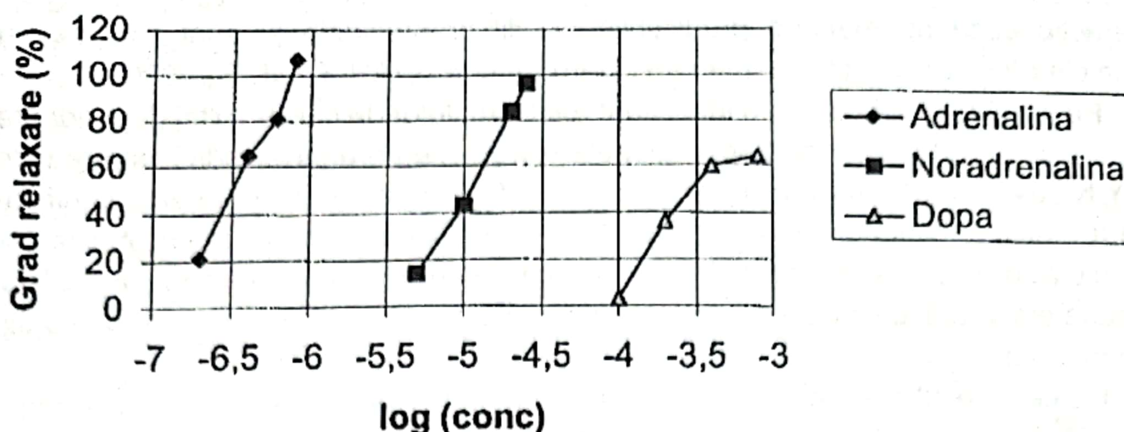


Fig. 7.17 – Efectele catecolaminelor asupra spiralei de trahee de cobai contractată cu histamină

Efectul relaxant a fost urmărit la două, trei şi cinci minute.

S-a calculat gradul de relaxare (%) corelat cu logaritmul concentraţiei fiecărei doze administrate (vezi **fig. 7/17**).

- S-a realizat relaxarea fiecărui preparat dependent de doză, în intervalul de timp urmărit.
- Efectul cel mai evident a fost realizat de ***adrenalina*** 10^{-7} M, apoi **noradrenalina** 10^{-5} M şi ***dopamina*** 10^{-4} M.
- Pe muşchiul necontractat ***noradrenalina*** în aceleaşi doze nu a modificat tonusul bazal.

Plecând de la ipoteza că receptorii β_1 sunt dependenţi de mediaţia nervilor simpatici ***(β-receptori ai inervaţiei)***, în timp ce receptorii β_2 sunt dependenţi de adrenalina circulantă ***(β-receptori dependenţi hormonal)*** (BARNES P. J., 1988), constatăm că noradrenalina a realizat relaxarea de aproape 100% în concentraţie de alt ordin de mărime faţă de adrenalină.

Studii funcţionale paralele pe acelaşi ţesut *in vitro* arată că relaxarea la β-agonişti exogeni este mediată de receptori β_2, în timp ce relaxarea la stimularea nervoasă simpatică este mediată de receptori β_1.

În muşchiul neted al căilor respiratorii umane, care nu au inervaţie simpatică semnificativă, nu sunt de aşteptat efecte mediate de receptorii β_1. Această ipoteză a fost confirmată de studii *in vitro,* în care relaxarea căilor respiratorii centrale şi periferice a fost realizată numai de receptorii β_2.

Prenalterolul, stimulent β_1 nu are efect bronhodilatator la subiecţii astmatici, iar ***izoproterenolul*** care stimulează receptorii β_1 şi β_2, nu realizează un efect bronhodilatator adiţional comparativ cu agoniştii β_2.

BIBLIOGRAFIE

1. DANIEL E. E., et al., *Ultrastructural studies in the neuromuscular control of human tracheal and bronchial muscle.* Respiration Physiology, 1986, 63: 109–128.

2. MIHALAȘ G., SCHNEIDER F., PETROIU A., MIHALAȘ G. I., *Computer tehniques in bronchomotricity functional investigations and experimental research,* Timișoara medicală, Supplement, 1989, 34: 47–50.

3. PETROIU A., MIHALAȘ G., COSTE O., SCHNEIDER F., *Model experimental pentru studiul motricității musculaturii netede a căilor aerifere.* Cercetări experimentale medico-chirurgicale, Timișoara, 1994a, 1, 1: 35–38.

4. JANSSEN L. J., DANIEL E. E., *Pre- and post-jonctional muscarinic receptors in canine bronchi,* Am. J. Physiol., 1990, 259 (Lung Cell. Mol. Physiol. 3): L304–L314.

5. SCHNEIDER F., PETROIU A., MIHALAȘ G., DRAGOMIR A., MĂTIEȘ R., *Acțiunea nifedipinei asupra coontracției induse de acetilcolină pe spirala de trahee de cobai.* Fiziologia (Physiology), 1991, 1,1: 17–20.

6. BARNES P. J., *Modulation of neurotransmission in airways.* Physiological Reviews, 1992, 72: 699–729.

7. CHUNG K. F., BARNES P. J., *Role of inflamatory mediators in asthma.* British Medical Bulletin, 1992, 48, 1: 135–148.

8. PETROIU A., MIHALAȘ G., SCHNEIDER F., *Experimental studies concerning nifedipine action of histamine induced contraction of guinea pig tracheal spiral.* Fiziologia (Physiology), 1993, 3, 1–2: 35–41.

9. RUSU V., BARAN T., BRĂNIȘTEANU D. D., *Biomembrane și patologie.* 1998 (1), Ed. Medicală, București.

10. SISSON J. M., *Ethanol stimulates apparent nitric oxide-dependent ciliary beat frequency in bovine airway epithelial cells.* Am. J. Physiol., 1995, 268, (Lung Cell. Mol. Physiol. 12): L596–600.

11. SISSON J. M., TUMA D. J. RENNARD S. J., *Acetaldehyde – mediated cilia dysfunction in bovine bronchial epithelial cells.* Am. J. of Physiol., 1991, 260 (2 pt. 1), L29–36.

12. SISSON J. M., TUMA D. J., *Vapor phaze exposure to epithelial cell ciliary mobility.* Alcohol Clin. Exp. Res., 1944, 18 (5), 1252–1255.

13. ȘANDOR S., CHECIU M., FAZECAȘ-TODEA I., *Embrio- și fetopatia alcoolică.* 1993, Ed. Academiei Române, București.

14. FANTA M. C., *Calcium channel blochers in prophilaxis and treatment of asthma.* Am. J. Cardiol., 1985, 55, 202B–209B.

43. KUMASAKA D., LINDEMAN K. S., CLANCY J., LANDE B., CROXTON T. L., HIRSHMAN C. A., *$MgSO_4$ relaxes porcine airway smooth muscle by reducting Ca^{2+} entry.* Am. J. Physiol., 1996, 270 (3 Pt 1) pL469–474.

44. BARNES P. J., *Adrenergic regulation of airway function.* In The Airways Neural Control in Health and Disease. vol. 33, Eds. Kaliner M. A., Barnes P. J., Marcel Dekker Inc., New York, 1988, 303: 67–82.

8. STUDII CLINICE PRIVIND BRONHOMOTRICITATEA

Testele de explorare funcţională pulmonară deţin un rol important în diagnosticul pacienţilor cu patologie respiratorie, pentru evaluarea răspunsului la terapia specifică şi totodată pentru monitorizarea evoluţiei lor clinice. Utilitatea testelor ventilometrice este legată de stabilirea prezenţei unei disfuncţii ventilatorii, de diferenţiere a disfuncţiilor obstructive de cele restrictive, paralel cu evaluarea severităţii acestora.

Obstrucţia variabilă a căilor rspiratorii poate fi evaluată prin câteva din următoarele teste:

I. Spirometria – dă o imagine foarte exactă a severităţii astmului şi a gradului de obstrucţie a căilor respiratorii.

Volumul expirator maxim/secundă – **VEMS** – este cel mai reproductibil parametru al funcţiei pulmonare şi se corelează direct cu severitatea obstrucţiei. Nu sunt contraindicaţii pentru testare, iar metoda şi interpretarea rezultatelor sunt standardizate.

Există două modalităţi de exprimare a debitelor ventilatorii maxime şi forţate:

– debite medii – valoarea medie a debitelor instantanee maxime realizate pe o unitate de timp dată: **FEF_{25-75}, FEF_{50-75}, FEF_{75-85}** ce depind numai de proprietăţile mecanice ale plămânului, nu şi de forţa musculară. Cu ajutorul acestor teste se pot decela obstrucţii uşoare în care VEMS poate avea valoare normală;

– debite instantanee maxime – valori de debite înregistrate într-un anumit moment al mişcării ventilatorii, sau la un volum pulmonar dat: **PEF–debitul expirator maxim instantaneu de vârf** obţinut la un volum pulmonar apropiat de CPT, **$MEF_{50\%}$** şi **$MEF_{25\%}$** obţinute la 50% sau 25% din C.V. Scăderea $MEF_{50\%}$ se corelează bine cu reducerea FEF_{25-75} la bolnavii cu sindrom obstructiv distal (DUŢU ŞT., 1997).

II. Teste de provocare bronşică – măsoară responsivitatea căilor respiratorii la stimuli nespecifici ce declanşează bronhoconstricţia:

– testul de provocare cu metacolină sau carbacol este standardizat, dar cere îndemânare tehnică şi este contraindicat în unele situaţii;

– VEMS-ul postbronhodilatator măsoară cea mai bună funcţie ce poate fi atinsă prin terapie bronhodilatatoare. Un răspuns pozitiv ajută la confirmarea diagnosticului.

III. Monitorizarea ambulatorie – folosind peak-flowmetre furnizează măsurători multiple ale gradului de obstrucţie în ambianţa naturală a pacientului, dar rezultatele PEF astfel obţinute sunt mai puţin de încredere decât VEMS.

IV. Rezistenţa la flux poate fi determinată prin:

– metoda pletismografică – permite măsurarea volumelor pulmonare statice, a rezistenţei la flux în căile aerifere Raw şi a derivatelor sale: conductanţa căilor aerifere la flux Gaw = 1/Raw şi conductaţa specifică, care exprimă debitul de aer determinat de o presiune efectivă de 1 cm apă, la un volum pulmonar de 1 litru sGaw = Gaw/CRF.

– metoda întreruperii fluxului de aer la gură, ce oferă informaţii privind rezistenţa la flux a sistemului respirator.

Rezultatele testelor prezentate sunt corelate semnificativ unele cu altele, fiind studiate pe grupe mari de pacienţi cu grade variate de severitate a obstrucţiei căilor respiratorii.

Toate aceste teste contribuie cu o anumită cantitate de informaţie unică la măsurarea obstrucţiei bronşice într-o investigaţie clinică (ENRIGHT P. L., 1994).

8. 1. Variaţia parametrilor ventilatori în cadrul unor teste de responsivitate bronşică

Obstrucţia variabilă a căilor respiratorii, asociată cu o hiperreactivitate bronşică secundară unei reacţii inflamatorii la nivelul căilor aerifere, caracteristică astmului bronşic (COCKCROFT D. W., 1991), poate fi apreciată prin teste de provocare bronşică.

Un mare număr de agenţi farmacologi sunt susceptibili de a provoca bronhoconstricţie, mai des utilizaţi fiind histamina şi agenţii colinergici: acetilcolina, metacolina sau carbacolul. Diverse studii au folosit: serotonina, bradikinina, beta-adrenergic antagonist, prostaglandine $F_{2\alpha}$, leucotriene, AMP.

În studiile noastre, dintre testele de provocare nespecifice ale bronhoconstricţiei, s-au utilizat cele cu aerosoli cu acetilcolină în doze diferite, pentru a

diferenția reactivitatea unui grup de subiecți astmatici, față de un lot martor format din 10 tineri sănătoși (MIHALAȘ G., 1986). Pe curba flux-volum aparatul Ohio-Omni-Lab a calculat parametrii ventilometrici dintre care au fost prelucrați statistic: VEMS, PEF, debitele medii expiratorii maxime DEM_{2-12}, DEM_{25-75} și ventilația maximă efectuată timp de 15 secunde – Vmax.

Modificările VEMS % față de valorile ideale și ale VEMS/CVF–E, au fost găsite scăzute statistic semnificativ ($p<0,05$) față de determinarea inițială, numai la lotul de bolnavi.

PEF a fost modificat atât la subiecții normali, dar mai ales la cei cu astm bronșic ($p<0,001$), la care și ventilația maximă (Vmax) a fost modificată.

Reducerea indicilor calculați după aerosoli arată o reactivitate crescută prin modificarea rezistenței căilor aerifere la bolnavii cu astm bronșic.

Pentru a evidenția hiperreactivitatea unui grup de subiecți cu astm bronșic exogen s-au utilizat teste de inhalare cu acetilocolină, cât și determinarea parametrilor ventilatori după administrarea unui β_2 stimulant-salbutamol. Comparând rezultatele acestui grup de bolnavi astmatici cu cele obținute la un lot martor, diferența de răspuns a fost semnificativă. La determinarea efectuată după 30 de minute după administrarea de salbutamol parametrii ventilatori au crescut față de valorile obținute după aerosolii cu acetilcolină 0,5%. Parametrii cei mai sensibili s-au dovedit a fi PEF și Vmax.

β_2 agoniștii rămân bronhodilatatorii cei mai utilizați în practica medicală. Ei reversează contracția mușchiului neted la spasmogeni acționând în egală măsură asupra căilor largi sau mici, iar asupra mastocitelor previn eliberarea mediatorilor, de asemenea influențează permeabilitatea microvasculară, transmisia colinergică și eliberarea factorilor epiteliali (BARNES P. J., 1992).

Și anumiți factori fizici pot influența tonusul bronhomotor ca: efortul fizic, aerul rece, hiperventilația și aerosolii cu soluții nonizotonice.

S-a studiat reactivitatea bronhomotorie nespecifică la un grup de 60 subiecți astmatici, înregistrându-se parametrii ventilometrici înainte și după inhalarea de aerosoli cu soluție salină hipertonă prin nebulizare ultrasonică timp de un minut cu aparatul Tur Usi 3. Testarea s-a repetat după trei zile de administrare a unui blocant al canalelor de calciu, corinfar 30 mg/zi (MIHALAȘ G., 1990). În acest studiu cel mai sensibil test s-a dovedit a fi DEM_{2-12}.

Dintre agenții nespecifici ce pot declanșa bronhospasmul au mai fost studiați efortul fizic și influența frigului. În datele din literatură se evidențiază că solicitarea fizică la astmatici poate duce la creșterea rezistenței la flux a căilor respiratorii, caracteristică fiind apariția după terminarea efortului a unei respirații șuierătoare forțate, cu dispnee expiratorie. În cazurile studiate de noi procentul de apariție al bronhospasmului de efort a fost mult mai mic.

La un alt grup de 10 tineri sănătoşi s-au determinat parametrii ventilatori înainte şi după imersia feţei în apă la 10°C, timp de 15 secunde. De asemenea s-a urmărit tensiunea arterială şi frecvenţa cardiacă, calculată pe o derivaţie ECG înregistrată în timpul probei (vezi **fig. 8/1**). Dintre parametrii ventilatori s-au modificat debitele medii şi mai ales PEF de la 93±9% la 75±10% ($p<0,01$). Probabil modificările acestor parametrii s-au realizat printr-o reacţie vagală evidenţiată şi de bradicardizare.

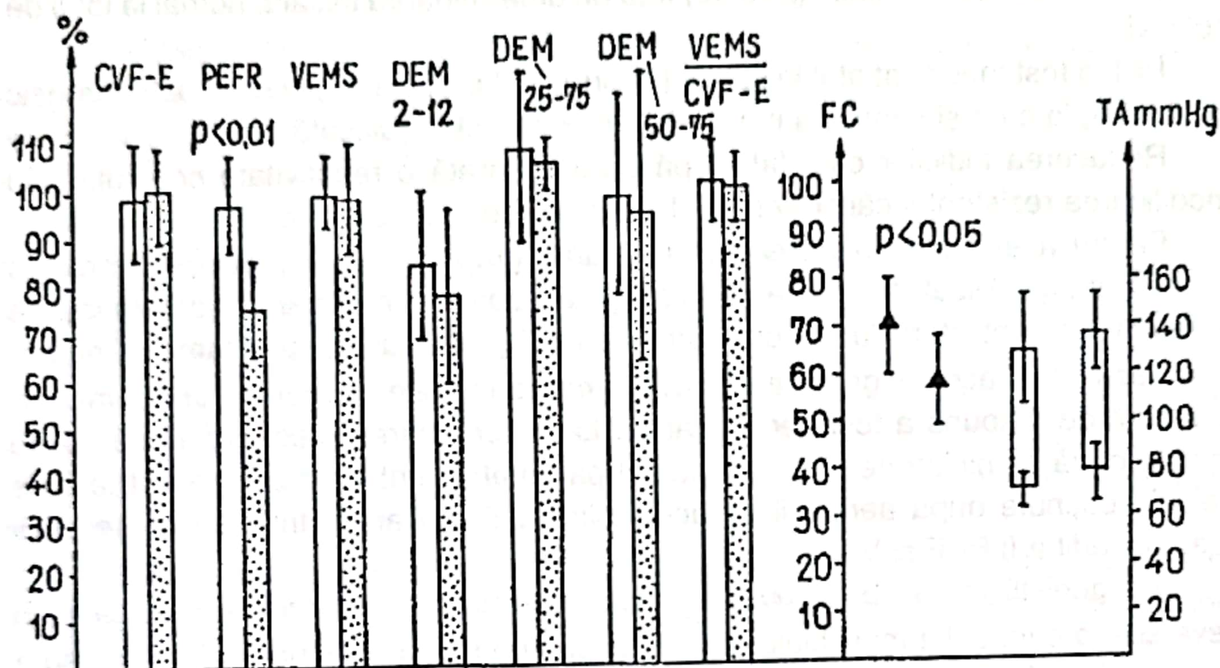


Fig. 8.1 – Variaţia parametrilor ventilatori, frecvenţei cardiace şi tensiunii arteriale, la un lot de tineri sănătoşi, după imersia feţei timp de 15 s, la 10°C

Metode ce utilizează aerosoli hipo- sau hiperosmolari, hiperventilaţia de aer rece sau uscat şi efortul fizic sunt curent folosite în cercetare, dar utilizarea lor clinică este limitată (BOULET L. P., 1994).

Esenţial pentru interpretarea testelor de provocare rămâne pe lângă metoda folosită, parametrii funcţionali utilizaţi pentru evaluarea răspunsului bronşic provocat, analiza şi expresia rezultatelor (STERK P. L., 1993).

Manevrele de inspir maximal precedând expirul forţat pot influenţa tonusul bronşic şi afecta deci răspunsul. Orehek J. şi col. arată că efectul bronhodilatator al inspiraţiei forţate care precede măsurarea VEMS, poate masca bronhoconstricţia provocată, subestimând astfel sensibilitatea bronşică. De aceea în unele studii s-a folosit măsurarea Raw pletismografică, care nu necesită manevră forţată şi permite construirea curbei doză-răspuns pentru a aprecia sensibilitatea şi reactivitatea bronşică (BADIER M., 1993).

Totuşi metoda cea mai utilizată pentru măsurarea răspunsului bronşic este:
– ***VEMS PC20 sau PD20*** = concentraţia sau doza de aerosoli responsabilă de scăderea cu 20% a VEMS-ului

– ***Raw prin pletismografie*** – nu necesită manevră forţată.

Prin construirea curbei doză-efect se poate aprecia:

– ***sensibilitatea bronşică*** = doza în micrograme de carbacol care provoacă o creştere de 100% a Raw;

– ***reactivitatea bronşică*** = panta curbei doza de carbacol – conductanţa specifică a căilor aeriene.

Rezultatele obţinute după administrarea de agonişti bronhoconstrictori pot fi influenţate de numeroşi factori cum ar fi:

■ legaţi de subiect – stabilitatea astmului (infecţii recente), medicaţia utilizată, variaţii circadiene ale răspunsului bronşic, tahifilaxie la histamină sau la metacolină, configuraţia anatomică a căilor aerifere

■ tehnica de eliberare de aerosoli şi de inhalare:

- metoda stocată
- metoda utilizând un dozimetru – valorile ce exprimă sensibilitatea bronşică fiind mai scăzute faţă de metoda stocată (BADIER, 1993)
- debitul de nebulizare
- caracteristicile fizice ale aerosolilor

■ agonistul bronhoconstrictor utilizat:

- histamina prezintă inconvenientul efectelor secundare
- metacolina fiind hidrolizată de acetilcolinesteraza, are toleranţă mai bună, metabolizarea ei făcându-se mai rapid
- carbacolul

■ metoda de măsurare a răspunsului:

- parametrul utilizat: VEMS sau Raw
- curba doză-răspuns cumulativă

8.2. Implicaţiile blocantelor canalelor de calciu în reglarea bronhomotricităţii

Contracţia muşchiului neted al căilor respiratorii, eliberarea de mediatori celulari, secreţia de mucus şi activitatea reflexă colinergică vagală sunt evenimente legate de calciu. Disponibilitatea crescută de ioni de calciu pentru mecanismele de cuplare a excitaţiei cu contracţia, stimulare-secreţie şi conducerea impulsului nervos pot să explice contractilitatea crescută a muşchiului neted, eliberarea crescută de mediatori mastocitari şi secreţia exagerată de mucus.

Există numeroase argumente pentru a ne gândi că pe lângă o facilitare a bronhoconstricției produsă printr-o dereglare a sistemului nervos autonom, un rol deosebit este jucat de mușchiul neted bronșic. Ar putea fi un defect în receptorii din membrană, în influxul de calciu sau în metabolismul fosfolipidelor membranare.

Pentru că unele căi patogenice ale bronhoconstricției sunt în cele din urmă corelate cu o disponibilitate de ioni de calciu, liberi, în studiile următoare am plecat de la premiza că terapia ar trebui să reducă concentrația calciului la nivelul celulelor contractile și secretorii. În acest sens am încercat să evaluăm rolul blocantelor canalelor de calciu în reglarea bronhomotricității, cunoscând că acestea inhibă influxul de calciu prin canalele lente membranare, iar la concentrații mari au fost descrise interacțiuni cu locurile de legare a Ca^{2+} de pe calmodulină împiedicând activarea kinazei lanțurilor ușoare ale miozinei.

Este de presupus că blocantele canalelor de calciu pot modifica și evenimentele celulare asociate cu bronhoconstricția alergică, deoarece sinteza și eliberarea de mediatori la fel ca și evenimentele contractile ale musculaturii netede sunt Ca^{2+} dependente.

8.2.1. Efectul Nifedipinei în doză unică asupra bronhospasmului din astmul bronșic

A fost investigat un lot de 50 bolnavi, cu diagnostic de astm bronșic internați în clinicile medicale ale Spitalului județean Timișoara. Explorările s-au efectuat în Laboratorul de fiziologie clinică.

După completarea unei fișe cu date din anamneză și foaia de observație s-a înregistrat electrocardiograma și s-a determinat tensiunea arterială. Probele funcționale respiratorii s-au efectuat cu ajutorul spirografului Ohio-Omni Lab. Acesta este dotat cu un calculator ce are în memorie formulele de calcul pentru valorile ideale și procentele valorilor găsite raportate la cele ideale.

Parametrii ventilometrici:

– **CVF–E** – capacitatea vitală forțată expiratorie
– **PEF** – debitul expirator maxim de vârf
– **VEMS** – volumul expirator maxim/secundă
– **DEM_{2-12}** – debitul mediu expirator maxim între 200–1200 ml
– **IPB = VEMS/CVF–E** – indicele de permeabilitate bronșică

S-a testat efectul nifedipinei în doză unică de 20 mg, comparativ cu al corinfarului. După 30 de minute s-a făcut o nouă determinare a parametrilor ventilatori, a tensiunii arteriale și o înregistrare ECG.

ASTM BRONȘIC – NIFEDIPINĂ (Tabel 1)

Lotul a cuprins 25 bolnavi care au fost tratați cu nifedipină – 20 mg

Vârsta medie = 41±15 ani;

Sexul: masculin 64%, feminin 36%;

Vechimea bolii a fost foarte variată = 9±10 ani.

Simptome:

- dispneea (D) au prezentat-o 72% dintre bolnavi
- wheezing (W) a fost prezent la 44% dintre bolnavi
- raluri bronșice (R) erau prezente la 60% dintre bolnavi.

Parametrii cardiovasculari

Tesiunea arterială maximă la prima determinare a fost de 127±12 mmHg și a scăzut la 118±11 mmHg ($p<0,001$).

Valorile tensiunii arteriale diastolice, de asemenea au scăzut de la 83±7 la 79±8 mmHg (vezi **fig. 8/2**).

Frecvența cardiacă a crescut de la 77±13 la prima înregistrare, la 88±11 la determinarea a doua.

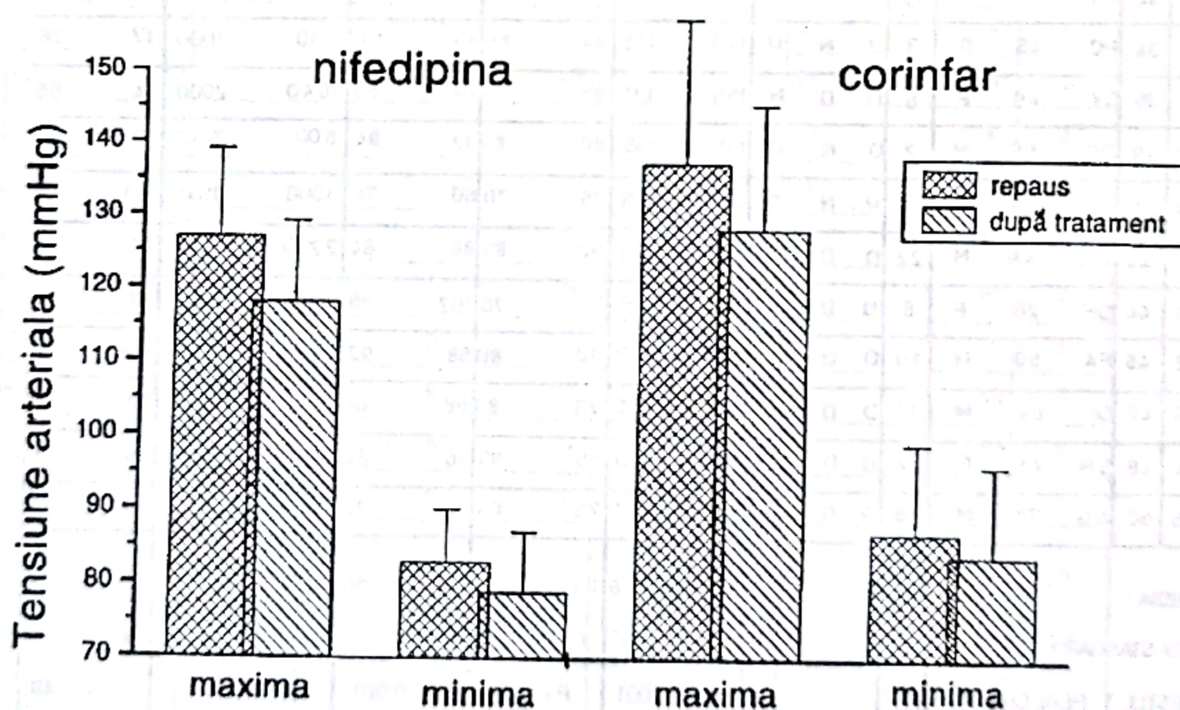


Fig. 8.2 – Valorile tensiunii arteriale înainte și după administrarea de nifedipină (20 mg) sau corinfar la bolnavii cu astm bronșic

Nr. crt	Nr. pac (1)	Nume	Vîrstă (2)	Sex	VB (3)	D	W	R	TAM 1 (4)	TAM 2 (5)	TAm 1 (6)	TAm 2 (7)	FC 1 (8)	FC 2 (9)	CV ML 1 (10)	CV ML 2 (11)	CVF-E % 1 (12)	CVF-E % 2 (13)
1	1	CA	30	F	14	D	N	D	120	110	80	70	70	72	3110	3200	83	85
2	5	MF	56	F	10	D	N	D	130	125	90	80	82	102	1140	1200	40	42
3	6	BI	46	M	0	N	N	N	125	120	80	80	62	82	4980	5350	101	109
4	8	JV	36	M	1	D	N	D	120	120	85	90	82	84	2910	3500	68	82
5	10	VI	27	M	0	N	N	N	130	120	80	75	56	76	7560	7470	143	141
6	12	BN	48	M	12	D	D	N	120	120	85	75	90	106	1680	1610	43	41
7	15	HG	18	M	0	N	N	N	125	115	85	75	80	84	6350	7350	103	119
8	18	JE	49	F	40	D	D	P	115	105	75	75	82	88	1240	1520	44	54
9	20	TM	32	M	0	N	N	N	125	120	90	85	80	90	4700	4700	97	97
10	22	PM	38	F	8	D	N	N	120	115	80	80	73	96	2800	3080	90	99
11	24	PV	51	M	7	D	D	D	155	135	95	85	70	80	2360	2180	57	52
12	25	MR	22	M	0	N	N	D	130	135	85	95	90	104	2370	3090	47	62
13	27	FM	20	M	14	N	N	N	115	100	75	65	54	64	4640	4640	95	95
14	29	BV	31	M	3	D	D	D	130	120	90	85	96	102	1690	1780	39	41
15	32	DT	19	M	18	N	N	N	105	105	65	65	60	80	3220	3530	64	70
16	34	PC	45	F	3	D	N	D	120	115	85	85	85	100	1030	1000	37	36
17	36	CV	49	F	8	D	D	N	155	135	95	90	70	82	1640	2000	54	66
18	39	PC	56	M	2	D	N	P	135	135	80	80	92	94	800	2060	17	43
19	41	DE	50	F	3	D	N	D	115	95	75	70	60	74	3000	3100	103	106
20	43	BD	40	M	22	D	D	D	145	125	90	85	86	84	2210	2130	46	45
21	44	SF	28	F	6	D	D	N	125	115	85	70	102	98	1260	1660	37	49
22	45	FA	59	M	10	D	D	D	125	130	80	80	88	92	2630	3260	64	79
23	47	DI	49	M	15	D	D	D	120	115	75	80	68	88	2240	2410	65	70
24	48	SM	41	F	22	D	D	D	135	120	85	85	76	84	2240	2630	79	86
25	50	BG	78	M	18	D	D	D	125	100	75	65	72	92	1680	1990	57	68
MEDIA:			41		9				127	118	83	79	77	18	2779	3058	67	73
DEV. STANDARD:			15		10				12	11	7	8	13	11	1689	1708	29	28
TESTUL T PERECHE:									P<0,001		P< 0,01		P<0,001				P<0,001	

VARIABILE CALITATIVE: % sex max. : 64 %
simpt. dispnee : 72 %
simpt. weezing : 44 %
simpt. roluri : 60 %.

Tabel nr. 1 –

DEP % 1	DEP % 2	ML 1	ML 2	VEMS % 1	VEMS % 2	DEM 2-12 % 1	DEM 2-12 % 2	IPB % 1	IPB % 2	A
39	48	1890	1940	54	55	36	36	66	66	2
31	38	760	780	35	35	5	5	67	65	3
41	82	3400	3590	80	84	37	36	68	67	3
24	26	1110	1600	91	45	14	19	38	46	2
77	75	3900	4010	85	88	78	76	52	54	2
39	35	940	850	29	26	8	6	56	53	2
68	68	4570	5200	84	96	66	76	72	71	3
29	35	860	360	39	43	9	12	69	63	2
55	96	3120	3720	76	90	36	99	66	79	1
49	67	1720	2000	66	77	37	35	61	65	3
18	22	1080	1000	31	29	11	9	46	46	2
41	37	1650	1750	39	41	19	28	70	57	2
60	80	3720	3620	91	88	57	85	80	78	3
24	20	970	920	27	25	7	7	57	52	2
33	34	1480	1580	35	37	16	19	46	45	1
18	19	500	520	23	24	12	14	49	52	4
72	81	1040	1220	42	49	13	18	63	61	1
15	18	340	1300	8	31	10	12	43	63	2
61	61	1750	1890	75	81	45	46	58	61	1
30	26	1060	1080	26	26	9	10	48	51	2
23	21	780	1000	26	34	7	11	62	60	2
39	38	1280	1470	37	43	14	18	49	45	1
28	22	1170	1270	43	47	14	17	52	53	2
47	64	1650	1860	65	74	34	42	68	71	1
39	40	1220	123	53	53	20	20	73	62	2
40	46	1678	1854	48	53	25	30	59	59	2,0
17	24	1141	1206	23	24	20	27	11	10	0,8
P<0,05				P< 0,001		P < 0,05		P<0,05		

Astm bronșic – nifedipină

NR CRT	1 NR PAC	NUM	2 VIRSTA	SEX	3 VB	DWR	4 TAH 1	5 TAH 2	6 TAm 1	7 TAm 2	8 FR. CARD. 1	9 FR. CARD. 2	10 CAP. VIT. 1	11 CAP. VIT. 2	12 CVF-E 1	13 CVF-E 2
1	2	GA	72	M	4	D D N	155	135	85	85	84	76	2470	2240	61	55
2	3	PC	39	F	11	N N D	155	145	110	105	65	72	3440	4050	108	127
3	4	GA	56	F	5	D D D	160	150	90	90	84	84	1760	1960	73	81
4	7	DA	51	F	6	D N N	140	130	95	95	90	104	1430	1740	53	64
5	9	VI	27	M	5	N N N	130	120	85	75	54	76	5910	6610	112	125
6	11	VA	58	F	8	D D D	110	100	65	60	88	92	1810	2160	65	77
7	13	SS	44	M	0	D N D	120	105	85	70	76	78	2990	3240	69	74
8	14	SA	65	F	10	D N D	185	165	110	95	66	68	1220	1360	49	55
9	16	DI	60	M	2	D D D	155	145	100	95	86	92	1240	1150	36	33
10	17	IA	50	M	2	D D D	165	140	95	95	105	114	3390	3430	70	71
11	19	FD	25	F	4	D N N	105	105	75	75	86	102	3000	3080	83	85
12	21	MC	35	F	10	D D D	115	115	75	75	72	84	2000	2120	68	72
13	23	MM	28	F	1	D D N	130	120	80	80	96	96	3370	3540	94	99
14	26	DM	45	F	3	D D D	135	135	95	90	70	78	2280	2480	74	80
15	28	NI	46	F	13	D D N	115	160	70	65	78	96	1340	1030	38	29
16	30	CD	53	F	2	D N N	145	125	100	95	92	98	1300	1300	49	49
17	31	CF	35	F	17	D D N	120	120	75	80	78	86	2080	2360	71	80
18	33	NI	36	F	5	D D D	135	125	85	80	86	96	3460	3860	106	119
19	34	BC	34	M	12	D N N	115	105	70	70	70	78	3780	3940	74	77
20	37	FI	44	F	16	D N N	150	135	80	80	74	84	2980	3000	106	107
21	38	CD	36	F	10	D D D	160	140	105	100	100	104	1640	1600	46	45
22	40	IV	53	F	20	D D N	145	130	85	80	78	94	1220	1460	39	47
23	42	CB	34	M	4	D D D	140	135	90	90	72	82	2710	2600	56	54
24	46	MV	56	F	30	D D D	130	110	85	65	72	72	2300	2590	73	82
25	49	RM	35	F	10	D D D	120	115	80	80	82	88	3940	3840	114	111
MEDÍA			45		8		137	128	87	84	80	88	2522	2671	71	76
DÉV. STAND.			12		7		20	17	12	12	12	12	1128	1251	24	27
TESTUL T PERECHE							P<0,01		P>0,05		P>0,001				P<0,01	

VARIABILE CALITATIVE : % : SEX MASC = 28 %
SIMPTON DISPNEIC = 92 %
SIMPTON WEESING = 64 %
SIMTON RALURI = 56 %

Tabel nr. 2 –

DEP% 1 (14)	DEP% 2 (15)	VEMS ML 1 (16)	VEMS ML 2 (17)	VEMS % 1 (18)	VEMS % 2 (19)	DEM% 2-12 1 (20)	DEM% 2-12 2 (21)	IPB% 1 (22)	IPB% 2 (23)	A
22	22	1320	1300	38	38	17	16	53	58	1
106	107	2880	3020	106	111	96	98	84	75	3
48	64	930	1120	58	70	15	18	53	57	1
63	72	1130	1120	56	60	16	21	79	70	4
65	74	3330	3130	73	78	63	60	56	53	3
30	42	1080	1190	50	55	18	20	60	55	2
34	40	1180	1240	32	34	11	12	39	38	2
34	48	700	780	41	45	6	7	57	57	2
21	21	540	500	19	18	2	2	44	43	2
46	42	2000	2130	48	51	30	33	59	62	2
44	38	1460	1570	44	48	22	25	49	51	1
54	52	1240	1280	53	54	19	22	62	60	4
57	63	2330	2420	72	75	57	64	69	68	3
57	78	1660	1600	62	64	33	43	70	67	2
29	27	790	640	25	20	6	6	59	62	4
45	52	1060	1040	54	53	16	11	82	80	2
56	58	1340	1460	57	62	24	28	64	62	1
63	84	2420	2530	87	91	61	74	70	65	1
39	50	2140	2420	49	55	29	38	57	61	1
55	67	2080	2320	96	107	37	16	70	77	3
24	20	760	680	24	21	7	5	46	43	2
30	35	1060	1100	41	43	9	16	87	75	3
18	19	1280	1440	31	35	16	16	47	55	3
75	83	1600	1740	61	66	36	44	70	67	1
50	50	2200	2300	71	74	47	50	56	60	2
47	52	1538	1625	54	57	28	30	62	61	2,2
20	23	712	774	22	24	22	24	13	11	1,0
P<0,01		P<0,001				P>0,05		P>0,05		

Astm bronșic – corinfar

Parametrii ventilatori (vezi **fig. 8/3**)

– CVF-E – a crescut semnificativ în valori absolute de la 2779±1689 ml la 3058±1708, iar în procente de la 67±29% față de ideal la 73±28%;

– PEF – a crescut semnificativ de la 40±17 la 46±24;

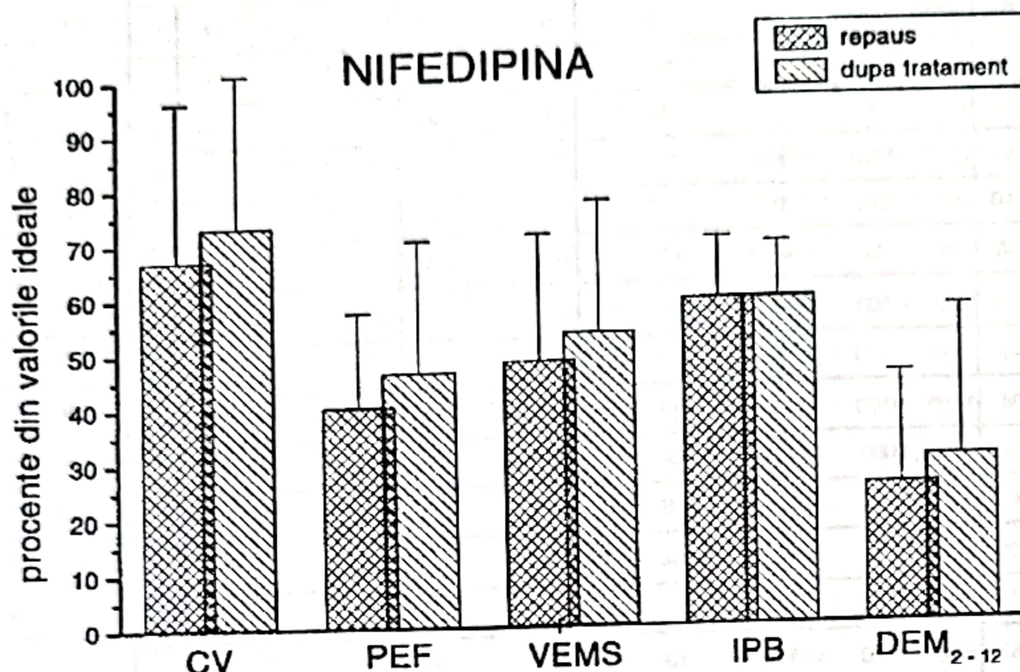


Fig. 8.3 –Variați parametrilor ventilatori la bolnavi cu astm bronșic după o doză unică de nifedipină (20 mg)

– VEMS – a crescut foarte semnificativ statistic de la 1678±1141 ml la 1854±1206 ml, în procente de la 48±23% la 53±24%, arătând o reducere a gradului de obstrucție bronșică;

– $DEM_{2-12\%}$ – crește de la 25±20% la 30±27%, indicând de asemenea reducerea obstrucției bronșice;

– IPB – parametrul obișnuit de apreciere al gradului de obstrucție bronșică ce se calculează raportând VEMS-ul în ml x 100 la CVF–E determinată – nu s-a modificat fiind de 59±11% la prima determinare și 59±10% la cea de-a doua, datorită faptului că a crescut în același raport atât CVF-E cât și VEMS-ul.

Calculul rezultatului efectului subiectiv, apreciat de bolnav în urma administrării medicamentului, indică o medie de 2±0,8 (1 = efect bun, 2 = mediu, 3 = nul, 4 = agravare).

ASTM BRONȘIC – CORINFAR (Tabel 2)

Cuprinde 25 de pacienți care au primit două comprimate de Corinfar.

– vârsta medie = 45±12 ani

– sexul: masculin = 28%; feminin = 72%;

– vechimea bolii = 8±7 ani.

Simptome:
– dispnee au prezentat 92% dintre pacienţi;
– wheezing-ul a fost prezent la 64%;
– raluri bronşice au prezentat 56%.

Acestea au rămas nemodificate la a II-a determinare.

Parametrii cardiovasculari

– Tensiunea arterială maximă a scăzut semnificativ de la 137±20 la 128±17 mmHg;

– Tensiunea arterială minimă nu s-a modificat semnificativ, de la 87±12, la 84±12 mmHg; (vezi **fig. 8/2**)

– Frecvenţa cardiacă a crescut foarte semnificativ de la 80±12 la 88±12 bătăi pe minut.

Parametrii ventilatori (vezi **fig.8/4**)

– CVF-E – a crescut semnificativ de la 2522±1128 ml la 2671±1271 ml, iar procentual de la 71±24% la 76±27%;

– PEF% – a crescut semnificativ de la 47±20 la 52±23;

– VEMS – a crescut foarte semnificativ de la 1538±712 ml la 1625±774, iar în procente faţă de ideal 54±22 la 57±24;

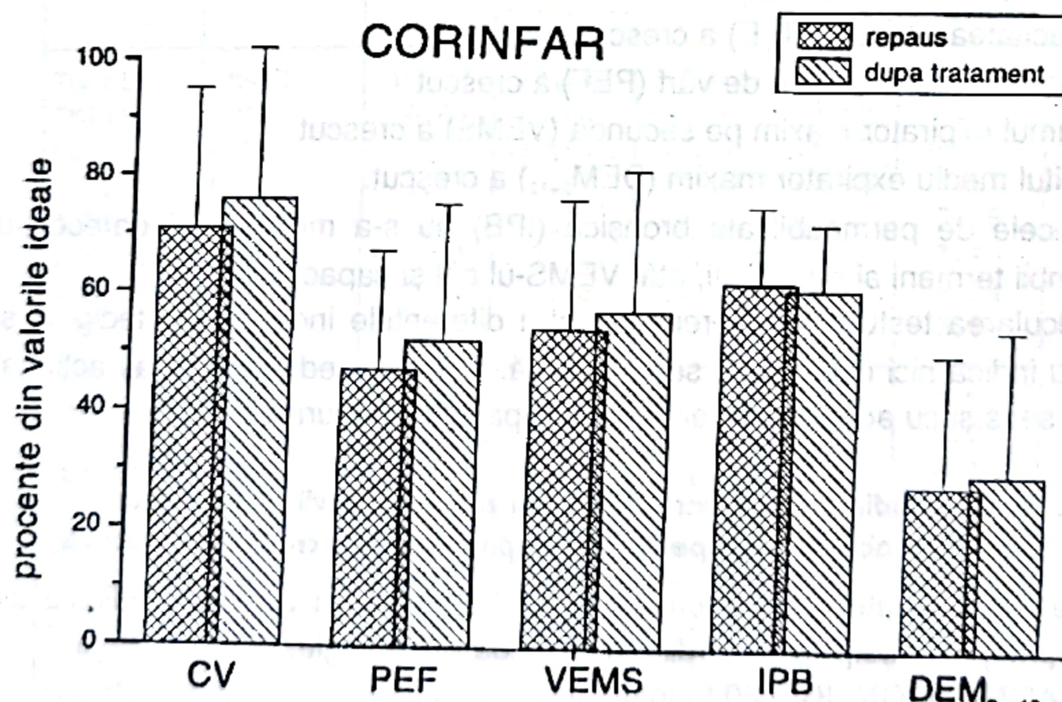


Fig. 8.4 – Variaţia parametrilor ventilatori la lotul cu astm bronşic după administrarea de corinfar în doză unică

– DEM% – nu s-a modificat;

– IPB – nu s-a modificat semnificativ din aceeași cauză prezentată la discuția de la tabelul nr. 1.

Aprecierea subiectivă a efectului medicamentului indicată de bolnavi a prezentat o medie de 2±0,8.

S-a calculat testul t nepereche CORINFAR-NIFEDIPINĂ pentru a compara efectele celor două substanțe nifedipină și corinfar.

Aceste teste s-au efectuat pentru a verifica omogenitatea loturilor, omogenitate care s-a confirmat statistic.

În partea a II-a, testul t nepereche pentru diferențe a fost aplicat pentru diferențele parametrilor între cele două determinări induse de aplicarea tratamentului cu nifedipină și corinfar.

Din rezultatele obținute se observă că între cele două tratamente nu apar diferențe semnificative.

În concluzie:

- Nifedipina în doză unică de 20 mg administrată sublingual a modificat semnificativ următorii parametrii la lotul cu astm bronșic:
- tensiunea arterială maximă a scăzut
- tensiunea arterială minimă a scăzut
- frecvența cardiacă a crescut
- capacitatea vitală (CVF-E) a crescut
- debitul expirator maxim de vârf (PEF) a crescut
- volumul expirator maxim pe secundă (VEMS) a crescut
- debitul mediu expirator maxim (DEM_{2-12}) a crescut.
- Indicele de permeabilitate bronșică (IPB) nu s-a modificat deoarece au crescut ambii termeni ai raportului, atât VEMS-ul cât și capacitatea vitală
- Calcularea testului t nepereche pentru diferențele induse de nifedipină și corinfar nu indică nici o diferență semnificativă. Ambele medicamente au acționat în același sens și cu aceeași eficiență asupra parametrilor urmăriți.

8.2.2. Efectul nifedipinei în tratament de trei zile la bolnavii cu astm bronșic în stadiu stabilizat și respectiv bronhopneumopatie cronică obstructivă

Au fost investigate două loturi de bolnavi internați în clinicile medicale ale Spitalului județean sau provenind din serviciul de Alergologie.

Lotul I – ASTM BRONȘIC = 60 bolnavi

Lotul II – BRONHOPNEUMOPATIE CRONICĂ OBSTRUCTIVĂ (BPOC) = 60 bolnavi

Lotul 1 ASTM BRONȘIC

După completarea datelor anamnestice s-a determinat tensiunea arterială, ECG și parametrii ventilatori de repaus, care s-au repetat după inhalarea de aerosoli cu soluție salină hipertonică prin nebulizare ultrasonică.

Fiecare pacient a primit 30 mg/zi nifedipină sau corinfar timp de trei zile, studiul fiind dublu orb. La sfârșitul tratamentului s-au repetat investigațiile. Prelucrarea statistică s-a efectuat în Laboratorul de informatică medicală a UMF Timișoara, utilizând pachetul de programe statistice Epi-info-5.

Tabelul 3 – PRELUCRĂRI – conține media și deviația standard a tuturor parametrilor.

Parametrii obținuți la determinarea inițială au primit indicele 1;

– indicele 2 reprezintă valoarea obținută după aerosoli;

– cu indicele 3 sunt cei obținuți după trei zile de tratament cu nifedipină, respectiv corinfar;

– iar cu indicele 4 valoarea obținută după aerosoli.

S-a calculat semnificația statistică a modificărilor parametrilor realizați la determinările după trei zile de tratament, cât și după aerosoli.

		LOT NIFEDIPINA (n=31)			LOT CORINFAR (n=29)		
seria 1	seria 2	media dif.	deviatia standard	p	media dif.	deviatia standard	p
TMAX1	TMAX3	10,32	15,26	<0,01	8,97	16,11	<0,01
TMIN1	TMIN3	6,61	9,61	<0,01	4,66	9,90	<0,05
FC1	FC3	-2,90	14,45	>0,05	-11,48	14,98	<0,01
CVP1	CVP2	1,94	6,32	>0,05	2,45	7,62	>0,05
DEP1	DEP2	0,90	8,49	>0,05	1,24	7,18	>0,05
VEMSP1	VEMSP2	0,94	7,05	>0,05	1,28	5,40	>0,05
DEM1	DEM2	3,74	8,28	<0,05	3,41	6,56	<0,01
IPB1	IPB2	-0,77	6,72	>0,05	-0,52	5,16	>0,05
CVP3	CVP4	1,87	6,77	>0,05	-0,17	6,82	>0,05
DEP3	DEP4	1,52	7,75	>0,05	0,97	9,21	>0,05
VEMSP3	VEMSP4	1,74	5,19	>0,05	1,83	8,02	>0,05
DEM3	DEM4	2,84	6,47	<0,05	1,14	7,92	>0,05
IPB3	IPB4	0,87	6,26	>0,05	2,72	9,28	>0,05
CVP1	CVP3	-0,71	16,69	>0,05	-3,83	21,60	>0.05
DEP1	DEP3	0,71	14,19	>0,05	-7,03	16,24	<0,05
VEMSP1	VEMSP3	-2,52	16,93	>0,05	-7,14	20,41	>0,05
DEM1	DEM3	-2,39	18,70	>0,05	-7,31	21,30	>0,05
IPB1	IPB3	-2,35	8,91	>0,05	-3,14	8,26	<0,05

REZULTATELE STUDIULUI

ASTM BRONŞIC – NIFEDIPINĂ

Cuprinde 31 de bolnavi din lotul de 60, care au fost trataţi trei zile cu 30 mg nifedipină.

Vârsta medie = 40,8±14,0 ani

Vârsta bolii = 7,8±6,6 ani

Simptome:

– dispneea – a fost prezentă la 87% dintre bolnavi;

– wheeshing – au prezentat 32% dintre bolnavi;

– raluri bronşice – au fost prezente la 29% dintre bolnavi.

Atât valorile tensiunii arteriale maxime, cât şi cele minime au scăzut semnificativ, în schimb frecvenţa cardiacă nu s-a modificat semnificativ.

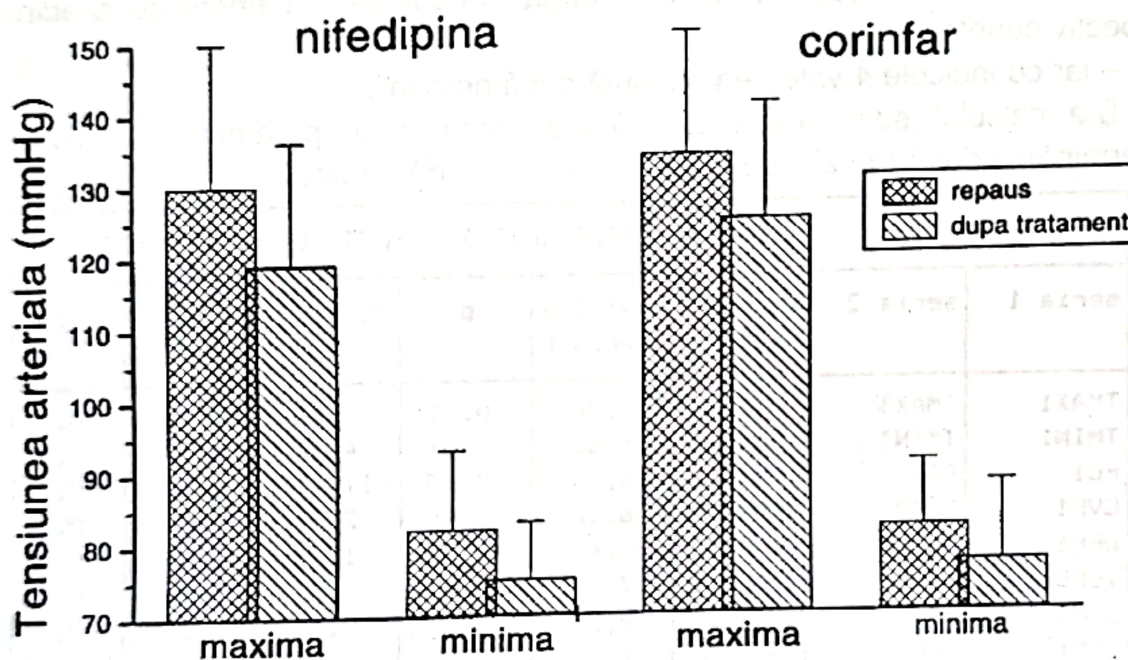


Fig. 8.5 – Valorile tensiunii arteriale înainte şi după trei zile de tratament cu 30 mg nifedipină sau corinfar la bolnavii cu astm bronşic

În ceea ce priveşte capacitatea vitală nu s-au realizat modificări semnificative nici după aerosoli (CVP_2, CVP_4) şi nici după tratamentul cu nifedipină.

Valorile VEMS-ului au fost uşor crescute la determinarea după tratament.

DEM_{2-12} a fost parametrul cel mai sensibil prezentând o scădere semnificativă după aerosoli cu soluţie salină hipertonă şi o creştere după cele trei zile de tratament.

Aprecierea subiectivă a efectului medicamentului indicată de bolnavi a fost 1,84±1,04.

ASTM BRONŞIC – LOT CORINFAR

Este reprezentat de 29 pacienţi având vârsta medie apropiată de a primului lot.
Vârsta medie = 42,72±15,94 ani;
Ani boală = 9,6±8,6.
Simptomele prezentate au fost apropiate procentual:
– dispnee = 75,6%;
– wheezing = 31%;
– raluri bronşice = 13,8%.

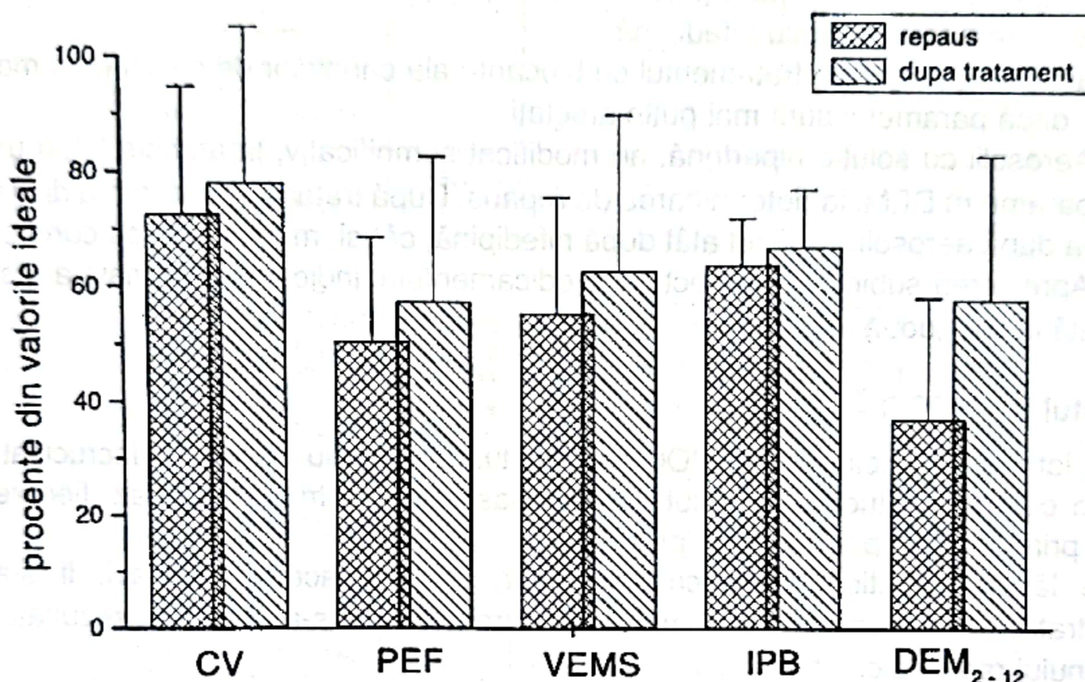


Fig. 8.6 – Variaţia parametrilor ventilatori după trei zile de tratamnt cu nifedipină 30 mg sau corinfar, la bolnavi cu astm bronşic

Parametrii cardiovasculari s-au modificat semnificativ şi în acelaşi sens ca şi la lotul anterior (vezi **fig. 8/5**), iar dintre parametrii ventilatori debitul expirator maxim de vârf (PEF) şi indicele de permeabilitate bronşică s-au ameliorat ($p<0,05$), arătând o reducere a gradului de obstrucţie bronşică.

Comparând valorile din repaus (1) şi după aerosoli (2) se remarcă modificarea aceluiaşi DEM_{2-12} ($p<0,01$), a cărui valoare creşte după tratamentul cu corinfar (3) şi nu se mai modifică după efectuarea de aerosoli (4).

Aprecierea subiectivă a efectului medicamentului indicată de bolnavi a fost = 1,86±0,99 variată de la bun (1) la nul (3).

În concluzie, la lotul cu astm bronşic în stadiu stabilizat:

● Nifedipina administrată în doză de 30 mg/zi timp de trei zile a modificat semnificativ valorile tensiunii arteriale maxime şi minime

● Deşi valorile parametrilor ventilatori: CV, VEMS, DEM_{2-12} şi IPB au crescut, modificările nu sunt statistic semnificative

● Corinfarul, în aceeaşi doză, a modificat semnificativ pe lângă valorile tensiunii arteriale şi debitul expirator maxim de vârf şi indicele de permeabilitate bronşică.

Analizând valorile parametrilor ventilatori de repaus s-a observat că lotul de pacienţi care au primit corinfar a prezentat şi la prima determinare valori mai bune decât cel care a fost tratat cu nifedipină.

S-ar putea aprecia că tratamentul cu blocante ale canalelor de calciu este mai eficient, dacă parametrii sunt mai puţin afectaţi.

● Aerosolii cu soluţie hipertonă, au modificat semnificativ, la ambele loturi un singur parametru DEM, la determinarea de repaus. După tratament, diferenţa dintre valoarea după aerosoli a scăzut atât după nifedipină, cât şi, mai ales, după corinfar

● Aprecierea subiectivă a efectului medicamentului indicată de bolnavi a fost apropiată la cele două loturi.

Lotul II – BPOC

La lotul de 60 bolnavi cu BPOC s-a efectuat un studiu dublu orb încrucişat, placebo controlat. Studiul s-a făcut timp de şase zile pentru fiecare caz, fiecare bolnav primind şi preparat activ şi placebo.

Pe lângă investigaţiile descrise anterior, în plus acestor bolnavi, li s-a înregistrat ECG la prima determinare şi după tratament şi s-a urmărit şi rezultatul examenului radiologic.

Analiza ECG a evidenţiat dintre modificările întâlnite în BPOC:

P pulmonar la 45% dintre bolnavi;

Ax QRS verticalizat = 40%;

Ax QRS deviat la dreapta = 3,3%

Bloc de ramură dreaptă = 8,3%

Parametrii de la prima determinare au fost notaţi cu indicele 1.

După trei zile de tratament au fost investigaţi toţi bolnavii. Aeşti parametrii au primit indicele 2, iar după încă trei zile de tratament au primit indicele 3.

Lotul de bolnavi cu BPOC – (vezi tabel 4 – Prelucrări BPOC) – a fost împărţit astfel:

Lot A: 30 cazuri, trei zile tratament 1 = placebo,
trei zile tratament 2 = nifedipină;

Lot B: 30 cazuri, trei zile tratament 1 = nifedipină,

trei zile tratament 2 = placebo.

Lot C = lotul de ansamblu = 60 pacienţi.

Vârsta medie a fost de 56±8,8 ani fiind mai crescută la lotul A = 58,6±8, faţă de lotul B = 53,3±8,9 ani;

Vechimea bolii a fost în medie = 10,9±9 ani, nefiind diferenţe între cele două loturi A şi B.

PARA-METRU	LOT A tratament1=placebo		LOT B tratament1=nifedip.		LOT C total(60 cazuri)	
	MEDIA	DEV.STD.	MEDIA	DEV.STD.	MEDIA	DEV.STD.
DISPNEE	93,3%		96,7%		95,0%	
OPRES.	80,0%		73,3%		76,7%	
RALURI	56,7%		53,3%		55,0%	
VIRSTA	58,600	8,054	53,367	8,931	55,98	8,83
ANI B.	11,833	11,039	10,000	6,798	10,92	9,14
REPAUS						
TMAX1	133,167	19,095	124,833	15,728	129,00	17,85
TMIN1	79,500	13,022	81,667	10,114	80,58	11,61
FC1	82,833	18,149	75,167	15,512	79,00	17,18
CPV1	52,900	16,204	58,433	19,346	55,67	17,91
DEP1	33,200	14,260	34,367	10,905	33,78	12,60
VEMSP1	39,733	17,644	44,868	19,048	42,30	18,39
DEM1	16,900	14,385	20,700	11,949	18,80	13,25
IPB1	59,133	14,600	62,000	11,504	60,57	13,11
	trat.1=PLACEBO		trat.1=NIFEDIPINA		PLACEBO indiferent 1 sau 2	
TMAX2	132,667	23,295	117,000	13,557	127,42	21,70
TMIN2	79,500	12,955	77,000	12,839	79,17	11,50
FC2	85,600	16,134	78,067	16,985	80,17	16,79
CVP2	52,267	18,488	61,033	22,533	57,83	21,25
DEP2	33,777	15,104	38,200	11,493	36,73	14,44
VEMSP2	39,667	17,393	47,633	21,147	44,07	19,27
DEM2	17,333	12,775	23,367	14,854	20,22	13,22
IPB2	60,600	11,533	62,400	8,724	61,25	9,87
	trat.2=NIFEDIPINA		trat.2=PLACEBO		NIFEDIPINA indiferent 1 sau 2	
TMAX3	126,833	18,731	122,167	18,923	121,92	16,95
TMIN3	78,667	9,371	78,833	10,059	77,83	11,18
FC3	85,367	22,549	74,733	15,887	81,72	20,13
CVP3	54,267	18,417	63,400	22,453	57,65	20,70
DEP3	35,633	13,515	39,700	13,337	36,92	12,51
VEMSP3	42,733	16,993	48,467	20,328	45,18	19,18
DEM3	18,233	13,390	23,100	13,236	20,80	14,26
IPB3	63,033	9,960	61,900	8,027	62,72	9,29

Dintre simptomele prezentate: dispneea a fost prezentă la 95% dintre pacienţi, iar raluri bronşice la 55% şi 76% acuzau opresiune toracică.

Examenul radiologic a evidenţiat următoarele aspecte: – staza pulmonară centrală cu accentuarea desenului hilar interstiţial bilateral = 53%. Uneori desenul interstiţial era accentuat pe toată aria pulmonară.

_ Emfizem pulmonar în 26% din cazuri;

– Pahipleurită apicală bazală şi, adeseori, latero-bazală = 15%.

Am analizat semnificaţiile testului „t pereche" BPOC.

La lotul A – valorile obţinute la a II-a determinare după tratamentul 1 placebo sunt foarte apropiate faţă de prima determinare (repaus) neexistând nici o diferenţă statistic semnificativă.

După următoarele trei zile de tratament cu nifedipină, tensiunea arterială maximă a scăzut semnificativ ($p<0,05$), iar parametrii ventilatori au crescut, dar nesemnificativ statistic.

La lotul B care a avut ca tratament 1 nifedipina, la a doua determinare, au scăzut atât valorile tensiunii arteriale maxime ($p<0,01$), cât şi ale minimei ($p<0,05$).

Dintre parametrii ventilatori, debitul expirator maxim de vârf a fost cel mai îmbunătăţit ($p<0,05$).

După următoarele trei zile de tratament 2 placebo, tensiunea arterială revine la o valoare apropiată de la prima determinare, în schimb parametrii ventilatori se îmbunătăţesc în continuare, diferenţă semnificativă înregistrând pe lângă debitul expirator maxim de vârf şi capacitatea vitală ($p<0,05$).

Comparând toate valorile parametrilor lotului A cu cel B prezentate prin testul STUDENT de data aceasta test „t nepereche", la prima determinare între cele două loturi nu s-a găsit nici o diferenţă semnificativă.

La a doua determinare după tratamentul 1, diferenţa este semnificativă ($p<0,01$) numai în cazul tensiunii arteriale maxime care a scăzut la lotul B, deşi toate valorile obţinute după tratament 1 nifedipină (lot B) sunt mai bune decât cele obţinute după trei zile de tratament 1 placebo (lot A).

La a treia determinare după tratamentul 2, între cele două loturi, rezultate mai bune sunt tot la lotul B, cei care au luat nifedipina ca prim tratament, evoluţia spre îmbunătăţire fiind mai rapidă.

Lotul de ansamblu = 60 de pacienţi (notat cu C):

- Analizând rezultatele întregului lot după tratamentul de trei zile cu nifedipină, 30 mg/zi – indiferent dacă a luat-o ca tratament 1 sau 2 faţă de valorile de la prima determinare s-au obţinut modificări semnificative în ceea ce priveşte scăderea tensiunii arteriale maxime ($p<0,01$) şi creşterea debitului expirator de vârf ($p<0,05$) şi a VEMS-ului ($p<0,05$)
- Comparând valorile obţinute după placebo, indiferent 1 sau 2, faţă de cele din repaus, nu s-a obţinut nici o modificare semnificativă:
- Nifedipina administrată ca tratament 1 a indus modificări mai bune, care s-au îmbunătăţit în continuare – Lot B, faţă de lotul A unde a fost administrată după trei zile de placebo.

La cei care au luat nifedipină ca tratament 1 evoluția spre ameliorare a fost mai rapidă

- Testele de provocare prin aerosoli cu soluție salină hipertonă la acest lot de BPOC, au produs modificări nesemnificative
- Aprecierea subiectivă a tratamentului a fost mai bună decât la cei cu astm bronșic, fiind de 1,40±0,56, deci o apreciere între 1 care reprezenta un rezultat bun și 2 mediu.

Considerăm că această îmbunătățire a stării subiective s-ar datora efectului realizat de tratamentul cu nifedipină asupra ameliorării circulației pulmonare.

În ceea ce privește aprecierea subiectivă a tratamentului, acesta a fost de 1,40±0,56 pe întregul lot, 1,433±0,56 la lotul A și 1,36±0,55 la lotul B.

Menționăm că bolnavii fiind internați în această perioadă în clinicile medicale au urmat și alt tratament.

Privind rolul blocantelor canalelor de calciu unele studii arătau absența efectelor acestora asupra tonusului bronșic bazal la oameni.

Patakas și colaboratorii arată ca nifedipina scade tonusul bronhial și diminuă modificarea circadiană a rezistenței căilor aeriene. La 11 pacienți cu astm bronșic și scăderi frecvente peste noapte a PEFR de 15% au demonstrat o bronhodilatație semnificativă, restrânsă numai la căile aeriene mari, după administrarea unei singure doze de 10 mg de nifedipină. S-a observat o creștere semnificativă a PEFR, a conductanței specifice a căilor aeriene (sGAW) și VEMS-lui la o oră și, în special, la două ore după administrarea nifedipinei.

În timpul a patru zile de tratament cu nifedipină, 3x10 mg/zi, scăderea PEFR în timpul nopții a fost mai mică, statistic semnificativă, decât scăderea medie a PEFR în timpul altor patru zile de tratament cu placebo. Deci, nifedipina influențează tonusul bronhial bazal la pacienții cu astm și diminuă modificarea circadiană a rezistenței căilor respiratorii.

Alte studii au încercat să demonstreze efectele obținute în urma unui tratament prelungit cu BCCa în astm. Astfel s-a administrat trei săptămâni 60 mg nifedipină pe zi, comparativ cu placebo, la 11 pacienți cu astm bronșic sever. În timpul tratamentului a scăzut durata crizelor de astm și de asmenea nevoia de stimulenți β-adrenoreceptori inhalați.

Pentru a urmări efectele BCCa *in vivo*, s-a realizat un studiu prospectiv pentru evaluarea efectului nifedipinei pe 60 subiecți: 15 cu astm bronșic, 15 cu BPOC, 15 cu angină pectorală și 15 normali. Toți subiecții au primit nifedipină 20 mg sublingual. Cu excepția subiecților normali s-a găsit o îmbunătățire semnificativă ($p<0,05$) a VEMS și CVF-E după administrarea nifedipinei. Efectul bronhodilatator maxim a fost observat la o oră după administrarea medicamentului și s-a menținut

și în ora a doua. Acest efect are o importanță clinică deosebită pentru pacienții cu angină pectorală și BPOC sau astm bronșic, deoarece agenții blocanți β-adrenergici utilizați pentru a controla simptomele anginei pot induce o brohoconstricție marcată la acești pacienți cu BPOC sau astm bronșic (TOWNLEY G. R., 1988).

În unele studii asupra unor subiecți astmatici, se observă eșecul verapamilului și nifedipinei de a inhiba bronhoconstricția indusă de metacolină și histamină (PATEL K. R., 1981), în timp ce scăderea VEMS-ului indusă de efort a fost prevenită atât de verapamil, cât și de nifedipină (PATEL K. R., 1981). Rezultate similare au fost publicate de Miadona. Verapamilul în prevenirea astmului indus de alergen, pare a acționa predominant prin inhibiția degranulării mastocitare.

Din studiile analizate de Townley reiese că deși BCCa protejează împotriva crizelor de astm induse de efort, hiperventilație de aer rece uscat sau inhalare de apă, efectul asupra astmului indus de alergeni este controversat. So și colaboratorii au arătat absența acțiunii verapamilului în prevenirea astmului indus de alergen (O'BYRNE 1990).

Potecția BCCa împotriva provocării la efort și alergen, dar nu împotriva metacolinei ar sugera un efect asupra mastocitelor căilor respiratorii. Deoarece Ca^{2+} joacă un rol important în reacțiile alergice, în special în legătură cu mecanismele de eliberare a mediatorilor chimici din celulele mastocitare și bazofile, ar fi posibil ca reacțiile alergice să fie suprimate în stadiul timpuriu inhibând influxul de Ca^{2+} în aceste celule.

Un studiu privind efectul galopamilului în inducerea răspunsului precoce și tardiv la oaia alergică, a arătat că galopamilul administrat intravenos sau prin aerosoli inhibă răspunsul tardiv la toate oile, în timp ce-l atenuează pe cel precoce la 66% din animale, efectul fiind egal între aerosoli și administrarea i.v. Inhibarea răspunsului tardiv apare independent de cel precoce. Deoarece Ca^{2+} este necesar pentru activitatea enzimei 5-lipoxigenazei observații *in vitro* și *in vivo* arată un efect inhibitor al BCCa asupra sintezei și eliberării de leucotriene. E posibil ca galopamilul să inhibe în special sinteza și eliberarea de leucotriene (D'BROT J., 1989).

Alte observații arată că verapamilul inhibă eliberarea de leucotriene din fragmente de plămân la concentrații mult mai scăzute decât cele necesare pentru a inhiba și eliberarea de histamină.

Din studiile noastre clinice privind efectul BCCa asupra bronhomotricității se poate remarca:

- Nifedipina are un efect bronhomotor, constând în ameliorarea efectului obstructiv bronhospastic
- Efectul este mai evident în astmul cu modificări bronhospastice în puseu acut la care se constată efecte nete bronhodilatatoare

● În stadiu stabilizat de astm bronşic şi BPOC, nifedipina, administrată timp de trei zile a modificat semnificativ debitul expirator maxim de vârf (PEF) şi VEMS

● Aerosolii cu soluţie salină hipertonă au modificat semnificativ la astmul bronşic un singur parametru DEM_{2-12}, la determinarea din repaus, pentru ca după cele trei zile de tratament cu BCCa, modificarea să nu mai fie semnificativă. Această observaţie este în concordanţă cu multiplele lucrări care prezintă efectul protector evident al BCCa împotriva bronhoconstricţiei indusă de efortul fizic datorită modificărilor osmolarităţii în căile respiratorii. Hiperosmolaritatea produsă datorită hiperventilaţiei din efortul fizic, ar induce ca şi Ca^{2+} degranularea mastocitelor.

● În domeniul explorării funcţionale s-au realizat progrese mai ales în depistarea fazei preclinice a bolii, respectiv a suferinţei căilor respiratorii mici. Obstrucţia acestora nu modifică nici VEMS-ul, nici rezistenţa la flux a căilor respiratorii. Pentru aceasta se pot utiliza debitele medii expiratorii maxime. Spre deosebire de VEMS acestea depind numai de proprietăţile mecanice ale plămânului, nu şi de forţa musculară. Cu ajutorul debitelor expiratorii maxime se poate decela precoce obstrucţia la flux în căile aerifere, atunci când VEMS-ul este normal, pentru că forţa musculară compensează efectele îngustării calibrului bronşic în conductele aerifere distale (DUŢU ŞT., 1997).

● Efectele pozitive de ameliorare a stării generale şi bronhospastice sunt semnificative din punct de vedere subiectiv şi mai bune la cei cu BPOC. Considerăm că ameliorarea simptomatologiei în stadiul stabilizat atât în BPOC, cât şi în astmul bronşic se datorează în parte şi reducerii hipertensiunii din circulaţia pulmonară.

● Eliberarea Ca^{2+} din rezervele intracelulare este probabil cea mai importantă sursă de Ca^{2+} pentru contracţia căilor respiratorii.

Medicamente care inhibă eliberarea Ca^{2+} din aceste rezerve, precum TMB–8 s-ar putea să aibă efecte evidente, dar încă nu sunt selective şi prea toxice. Heparina este un inhibitor competitiv eficace al legării Ins (1,4,5)P3 pe reticolul sarcoplasmatic, dar nu va putea fi utilizată în terapie deoarece nu are posibilitatea să intre în celulă (BARNES P. J., 1991). Totuşi studii mai recente arată că heparina inhalată exercită un efect protector împotriva unor varietăţi de stimuli bronhoconstrictori în astm ca: alergeni (BOWLER S. D., 1993), efort (AHMED T., 1993) şi AMP (POLOSA R., 1997). Acţiunea antialergică a heparinei poate fi explicată prin inhibiţia eliberării mediatorilor din mastocite. În plus heparina poate lega histamina.

● Intrarea Ca^{2+} necesar contracţiei muşchiului neted al căilor respiratorii se realizează în special prin canale operate de receptori (ROC) şi ca aspect prospectiv sunt aşteptate noi medicamente care să acţioneze pe aceste canale.

8.3. Variaţia rezistenţei la flux şi conductanţei căilor respiratorii la pacienţii astmatici

Rezistenţa la flux (Raw) şi reciproca sa, conductanţa căilor respiratorii (Gaw) permit aprecierea gradului de obstrucţie bronşică (MADAMA V. C., 1993). (MAREK W., ULMER W. T., 1995). Conductanţa specifică a căilor respiratorii este utilă pentru aprecierea reactivităţii traheobronşice în urma terapiei bronhodilatatoare sau a testelor de provocare bronşică.

S-a urmărit variaţia acestor parametri în astmul bronşic stabilizat la adulţi şi copii, pentru a suprinde aspecte particulare legate de vârstă (vezi **tabelul nr. 5**).

Au fost luate în studiu două loturi de pacienţi cu astm bronşic stabilizat:

– un lot de 20 pacienţi astmatici adulţi cu vârsta medie 32 de ani, din evidenţa Clinicii de pneumoftiziologie a Spitalului „V. Babeş" din Timişoara

– un lot de 10 copii cu astm bronşic, cu vârsta medie 12 ani, din evidenţa Clinicii de pediatrie a Spitalului „Bega".

Tabel nr. 5

Loturile investigate, date clinice

Date	Astm bronşic adulţi		Astm bronşic copii	
Număr subiecţi	20		10	
Vârsta medie (ani)	32±12		12±3	
Scor clinic	7		7	
Simptomatologie clinică	Dispnee	82%	Dispnee	68%
	Wheezing	65%	Wheezing	54%
	Tuse	60%	Tuse	58%
	Raluri	70%	Raluri	60%
Forma clinică de boală	Uşoară	48%	Uşoară	90%
	Medie	52%	Medie	10%

Toţi pacienţii prezentau un tablou de astm bronşic stabilizat, formă uşoară sau medie, cu un scor clinic 7 (după criteriile NIH), cu un istoric de boală între unu şi nouă ani pentru lotul de adulţi, între doi şi cinci ani pentru lotul de copii. La lotul de copii astmatici s-au dozat imunoglobulinele E serice, evidenţiindu-se o creştere de două-trei ori a valorii lor peste nivelul corespunzător vârstei. S-au inclus în studiu numai pacienţi fără semne de infecţie pulmonară în cele patru săptămâni anterioare testării.

Administrarea β-adrenomimeticilor şi corticoterapia s-au întrerupt cu 12 ore înaintea testării, pentru a evita interacţiunile medicamentoase.

PROBE FUNCȚIONALE PULMONARE:

S-a determinat parametrii ventilometrici uzuali și pletismografici prin intermediul unui pletismograf corporeal MGC 1085D, prevăzut cu un sistem de înregistrare și prelucrare computerizată a datelor de spirografie, expirografie forțată, înregistrarea curbei flux-volum și un sistem de înregistrare și prelucrare a principalilor parametri pletismografici.

Pentru determinarea parametrilor pletismografici (MADAMA V. C., 1993; DUȚU ȘT., 1997), pacientul stă în cutia pletismografului închisă ermetic și respiră în piesa bucală conectată la sistemul de colectare a datelor. Pentru determinarea Raw este necesară măsurarea simultană și continuă a trei parametri: presiunea alveolară (P_A), presiunea atmosferică, respectiv presiunea bucală (P_B) și fluxul de aer instantaneu (V). Dacă presiunea atmosferică și fluxul de aer instantaneu se pot determina numai prin pletismografie corporeală, pacientul efectuând o respirație tip „panting" la nivelul volumului curent, cu o frecvență de 1–2 respirații/secunde, se înregistrează o curbă flux-volum în formă de „S". Se trasează tangenta prin punctul de flux 0 al curbei, cu limitele definite la +0,5 1/s și –0,5 1/s, și se obține raportul flux/presiune din cutie (V/P_{CUTIE}). În timpul ciclului respirator, fluxul de aer se întrerupe scurt (de obicei la sfârșitul expirului) și se înregistrează presiunea la nivelul obstrucției traheale.

Într-un sistem static, în absența fluxului de aer în plămân, presiunea bucală, respectiv traheală este egală cu presiunea alevolară, dacă glota este deschisă. În aceste condiții, se corelează modificarea presiunii din cutia pletismografului cu presiunea bucală și se determină raportul presiune bucală/presiune din cutie (P_B/P_{CUTIE}) care echivalează raportul presiune alveolară/presiune din cutie (P_A/P_{CUTIE}).

Cunoscând factorul de calibrare pentru transducerul bucal și pentru flux, se calculează Raw prin formula:

$$Raw = \frac{PA/P_{CUTIE}}{V/P_{CUTIE}} \times \frac{\text{Factor calibrare transducer bucal}}{\text{Factor calibrare pneumotahograf}}$$

Conductanța căilor respiratorii se calculează ca reciproca Raw: Gaw = 1/Raw, iar conductanța specifică căilor respiratorii se calculează prin raportarea Gaw la volumul pulmonar (VTG): sGaw=1/Raw/VTG.

La pacienții cu valori ale VEMS-ului sub 80% din valoarea ideală, s-a efectuat testul de responsivitate bronșică prin administrarea inhalatorie a 50µg Salmeterol (β_2-adrenomimetic selectiv), folosind un spacer MDI, urmată de repetarea probelor după 20 de minute.

REZULTATE:

Toţi subiecţii investigaţi au fost capabili să efectueze testele funcţionale pulmonare.

A. Lotul de pacienţi astmatici adulţi:

S-a evidenţiat, în toate cazurile, o modificare a parametrilor ventilometrici uzuali care permite încadrarea lor în disfuncţiile ventilatorii de tip obstructiv: scăderea raportului VEMS/CV sub limitele corespunzătoare vârstei, scăderea debitelor ventilatorii medii, scăderea VEMS-ului (70±8%) şi a PEF-ului (62±15%) (vezi **tabelul nr. 6**). Testarea responsivităţii bronşice prin administrarea inhalatorie a Salmeterolului şi repetarea investigaţiilor la 20 minute a evidenţiat o creştere semnificativă a VEMS-ului (peste 15% din valoarea bazală) ca semn al reversibilităţii obstrucţiei bronşice, caracteristică reactivităţii bronho-motorii în astmul bronşic.

Tabel nr. 6

Parametrii ventilometrici uzuali la loturile cu astm bronşic

PARAMETRUL	LOT ADULŢI	LOT COPII
CV	85±10%	95±8%
VEMS	70±8%	83±16%
VEMS/CV	<limita corespunzătoare vârstei	<limita corespunzătoare vârstei
FEF 25%	58±12%	84±8%
FEF 50%	43±7%	69±15%
FEF 75%	41±8%	62±10%
PEF	62±15%	79±16%

Pentru parametri pletismografici (vezi **tabelul nr. 7**), s-au evidenţiat valori crescute ale Raw dar în procente variabile, atingând în unele cazuri creşteri de două-trei ori faţă de valorile normale (Raw normal la adulţi variind între 0,15–0,25 kPa/1/s sau 0,5–2,5 cmH_2O/1/s).

În paralel cu creşterea Raw s-a înregistrat scăderea Gaw (51±5%) şi a sGaw (66±4%). De asemenea, s-a evidenţiat creşterea semnificativă a volumului rezidual

Tabel nr. 7

Parametrii pletismografici la loturile cu astm bronşic

PARAMETRUL	LOT ADULŢI	LOT COPII
CPT	143±14%	120±10%
VR/CPT	39±4%	27±4%
Raw	128±7%	80±12%
Gaw	51±5%	128±9%
sGaw	66±4%	116±5%

(VR) și prin aceasta a capacității pulmonare totale (CPT), respectiv un raport VR/CPT crescut (39±4%). După Salmeterol s-a înregistrat o scădere semnificativă a Raw în paralel cu creșterea Gaw și a sGaw ($p<0,001$).

B. Lotul de pacienți astmatici copii

Determinarea parametrilor ventilometrici uzuali a evidențiat la lotul de copii astmatici valori în limite fiziologice ale VEMS-ului, PEF-ului, un raport VEMS/CV în limitele corespunzătoare vârstei și o reducere moderată a debitelor expiratorii medii (vezi **tabelul nr. 6**).

Pentru parametrii pletismografici (vezi **tabel nr. 7**), s-au evidențiat valori ale Raw în limitele corespunzătoare vârstei (80±12%) în paralel cu menținerea Gaw (128±9%) și a sGaw (116±5%) în limitele fiziologice. De remarcat că la copii, Raw se consideră normal până la 3,5–4,95 $cmH_2O/1/s$. De asemenea, s-au evidențiat modificări de mică amploare ale volumului rezidual (care nu depășesc 20–30% față de valorile normale) și ale capacității pulmonare totale (120±10%). Raportul VR/CPT a fost crescut: 27±4%, față de un raport mediu de 22%, cât este normal la această vârstă.

La lotul de copii, testul de bronhodilatație la Salmeterol nu a fost practicat datorită menținerii VEMS-ului în limitele normale.

În formele incipiente de astm bronșic stabilizat la copil, parametrii ventilometrici uzuali sunt în limite normale și tot în limite normale se situează Raw și reciproca sa, Gaw. Această imposibilitate de obiectivare a debutului unei obstrucții în căile respiratorii mici se datorește distribuției particulare a Raw de-a lungul căilor respiratorii: 40% în căile respiratorii superioare, 50% în căile respiratorii inferioare centrale și numai 10% în căile respiratorii inferioare periferice, considerată de autori o adevărată „zonă tăcută“ (BYLIN G., 1995; LI J. T., 1996).

În formele de astm bronșic cronic al adultului, se evidențiază o creștere a Raw și, respectiv, o scădere semnificativă a Gaw chiar în condiții bazale, stabilizate de boală, ca semn al obstrucției bronșice. Creșterea Raw și scăderea Gaw se corelează linear cu scăderea VEMS, iar variațiile lor se corelează cu severitatea obstrucției bronșice. Determinarea Raw permite aprecierea responsivității bronșice la variați agenți faramacologici, așa cum este Salmeterolul. Administrarea lui inhalatorie, determină la pacienții astmatici o creștere semnificativă a VEMS-ului (peste 20% față de valoarea bazală) și o reducere a Raw (orice creștere a calibrului ductelor determinând o modificare a Raw egală cu raza la puterea a patra) în paralel cu creșterea Gaw și a sGaw.

Creșterea Raw la pacienții astmatici adulți se constată în toate cazurile investigate, dar cu mari variații interindividuale: de la creșteri moderate până la

valori de două–trei ori peste valorile normale. Creşterea Raw, chiar în fazele stabile clinic, fără simptomatologie manifestă, precum şi reducerea sa semnificativă după testul de bronhodilatare este consemnată şi de alţi autori, ca indice al obstrucţiei bronşice dar şi al reversibilităţii sale. Madama (1993) consideră utilă determinarea Raw pentru evaluarea gradului de obstrucţie bronşică şi propune o încadrare a severităţii acesteia în raport cu creşterea Raw.

Tabel nr. 8

Severitatea obstrucţiei căilor respiratorii în raport cu valoarea Raw

Raw ($cmH_2O/1/s$)	SEVERITATE
2,8–4,5	uşor
4,5–8,0	moderat
>8,0	sever

Într-un studiu efectuat de Bisgaard şi colab. (1995) pentru evaluarea eficienţei metodelor de monitorizare a funcţiei pulmonare la copii, s-a evidenţiat că determinarea Raw şi a sGaw prin pletismografie corporeală, alături de determinarea rezistenţei respiratorii prin tehnica întreruperii intermitente (Rint) permit detectarea cazurilor subclinice de creştere a tonusului bronhomotor, în timp ce măsurarea VEMS-ului nu are aceeaşi relevanţă. Dacă se urmăreşte răspunsul la metacolină, sensibilitatea Raw, Rint şi VEMS este comparabilă, recomandându-se măsurarea lor combinată pentru monitorizarea funcţiei pulmonare în afecţiunile căilor respiratorii atât la adulţi cât şi la copii. În plus, Rint este influenţată de flux, înregistrându-se o creştere semnificativă a Rint o dată cu creşterea fluxului. Guillemi şi Hogg (1995) au evidenţiat o corelaţie semnificativă între valorile Raw, Rint şi PEF şi severitatea obstrucţiei căilor respiratorii periferice.

Într-un studiu asupra corelaţiei parametrilor pletismografici cu cei spirografici, Vollmer şi Schmidt (1995) au arătat o corelaţie semnificativă între valorile bazale şi după testul de bronhodilataţie pentru VEMS, Raw, FEF_{50} şi FEF_{25} şi au evidenţiat şi ei că există mari diferenţe individuale între rezultatele testelor. Această variabilitate de la caz la caz, ridică problema diferenţierii între „responders“ şi „non-responders“ în cazurile de astm, atunci când testele se utilizează pentru diferenţierea astmului de BPOC. Casaulta şi colab. consideră oportună determinarea lor simultană prin pletismografie la copii astmatici dar şi la cei cu sindrom de detresă respiratorie sau fibroză chistică. Această recomandare este de importanţă clinică certă, cu atât mai mult cu cât la pacienţii tineri, gradul şi severitatea hiperinflaţiei este mai mare.

Testul cel mai folosit este VEMS, dar Raw este mai sensibil; într-un studiu pe 148 de bolnavi cu astm bronşic, efectul bronhodilatator a fost semnalat în 96,6% din cazuri de scăderea Raw şi în 83,5% de creşterea VEMS, iar MEF_{50} nu a dat rezultate pozitive decât în 39,3% din cazuri. În conductele aerifere mici, chiar dacă spasmul muşchiului bronşic a cedat, lumenul canalelor cu diametru mai mic de 2 mm rămâne încă micşorat de hipersecreţia celulelor calciforme, edemul mucoasei şi de congestia vaselor capilare (DUŢU ŞT., 1997).

8.4. Corelaţia între parametrii ventilometrici de pe curba flux-volum – VEMS, PEF, FEFx% şi parametrii pletismografici – Raw şi sGaw în astmul bronşic

Pentru a corela parametri ventilometrici consideraţi indicatori ai gradului de obstrucţie bronşică, s-au luat în studiu 60 de pacienţi cu astm bronşic, ale căror date sunt redate în **tabelul 1.** În funcţie de rezultatele testelor funcţionale pulmonare, s-au diferenţiat grupurile:

- astm bronşic cu răspuns bronhodilatator pozitiv la prima testare (BD+, 34 testări)
- astm bronşic cu răspuns bronhodilatator negativ la prima testare (BD–, 13 testări)
- astm bronşic cu răspuns bronhodilatator pozitiv după şapte zile de corticoterapie orală, cu Prednison 1 mg/kg corp/24 h (BD+CSO, cuprinzând aceleaşi cazuri din lotul BD–)
- astm bronşic cu disfuncţie obstructivă distală, cu valori ale VEMS şi PEF ≥ 80% şi debite medii expiratorii maxime scăzute (13 testări).

Tabelul nr. 1

Caracteristicile clinice ale lotului investigat

CARACTERISTICILE CLINICE							
VÂRSTĂ	REPARTIŢIA PE SEXE	DURATA BOLII	SIMPTOME*				
			W	TE	TN	D	Ex
33,64 ± 7,8 ani	• M: 27 (45%) • F: 33 (55%)	5,01±3,8 ani	40%	31,66%	26,66%	18,3%	13,33%

SEVERITATEA BOLII		
TREPTE DE SEVERITATE**		SCOR CLINIC***
• TREAPTA I (uşor intermitent)	10%	• scor 1–3
• TREAPTA II (uşor persistent,	11,66%	• scor 4–6
• TREAPTA III (moderat)	78,33%	• scor 6–9

* W: wheezing, TE: tuse de efort, TN: tuse nocturnă; D: dispnee, Ex: expectoraţie
** După Guidelines for the diagnosis and management of asthma, Bethesda, Maryland, 1991
*** Scor clinic în funcţie de frecvenţa simptomelor

S-a urmărit corelaţia între VEMS şi PEF, consideraţi parametri standard pentru determinarea gradului de obstrucţie bronşică, precum şi corelaţia lor cu debitele expiratorii medii ($FEF_{x\%}$), Raw şi sGaw, consideraţi la rândul lor indicatori ai obstrucţiei bronşice.

S-au corelat valorile lor absolute (în litri, respectiv litri/secundă) şi procentuale, faţă de valoarea prezisă. Determinările s-au făcut pe curba flux-volum, respectiv

prin pletismografie, bazal (preBD) şi la 15 minute după administrarea β_2-agonistului inhalator (postBD). Răspunsul la testul de bronhodilatație s-a calculat conform formulei:

$$\%modif = \frac{(postBD - preBD)}{preBD} \times 100$$

considerându-se ca răspuns bronhodilatator pozitiv creşterea VEMS sau PEF ≥ 15% iar în cazul Raw, scăderea ≥ 40% (RHODES M. L., 1987, MADAMA V. C., 1993, GOLD W. M., 1994, DUŢU ŞT., 1997).

1. Corelația VEMS-PEF

● *Corelația VEMS-PEF în evidențierea obstrucției bronşice*

Pentru întreg setul de testări (n = 73), valoarea medie absolută a VEMS-ului preBD a fost 2,37 ± 0,72 l iar a PEF-ului preBD de 5,03 ± 1,51 l/s. Responsivitatea bronşică reflectată prin variația procentuală a VEMS-ului şi PEF-ului la testul de bronhodilatație, este redată în **figura 8/7**. Comparând cea mai bună valoare a

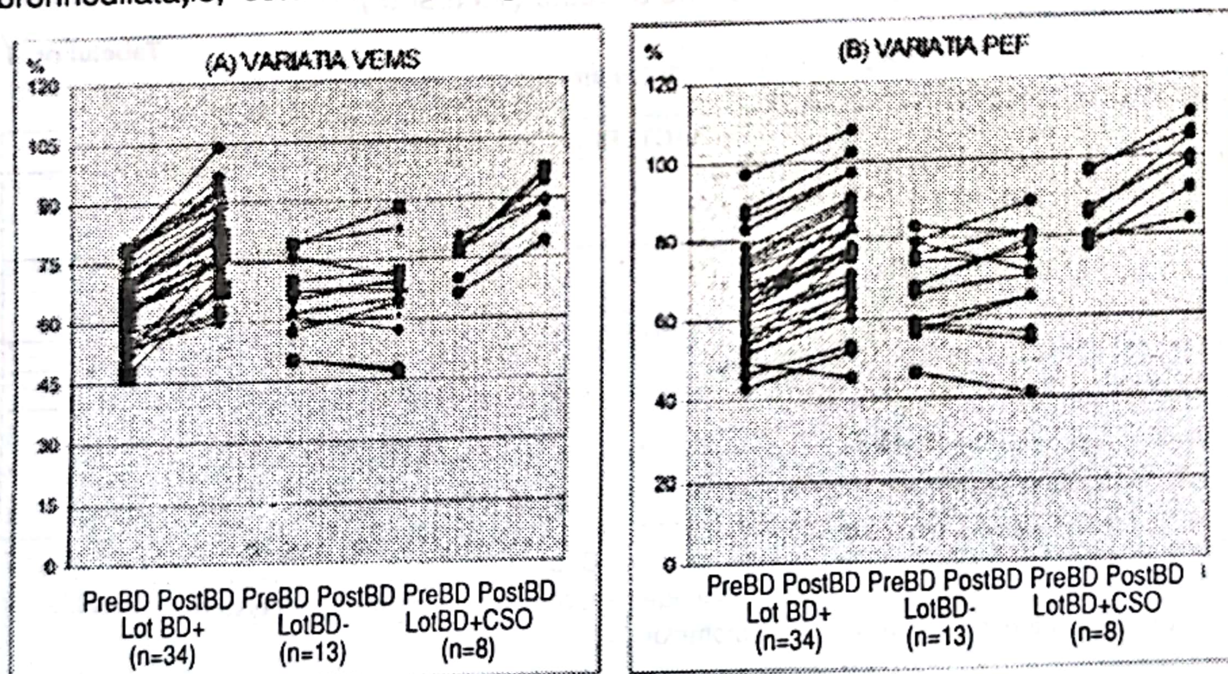


Fig. 8.7 – Responsivitatea bronşică reflectată prin variația procentuală a VEMS-ului (A) şi PEF-ului (B) la testul de bronhodilatație, la lotul de astmatici cu DVO (preBD: înainte de administrarea bronhodilatatorului; postBD: la 10 min. după bronhodilatator)

VEMS preBD cu valoarea corespondentă a PEF preBD, s-a evidențiat o corelație înaltă (r = 0,84; p < 0,001) (**fig. 8/8, a**). O corelație puternică s-a obținut şi când s-au luat în calcul valorile procentuale preBD față de valorile prezise ale VEMS (73,57 ± 13,55%) şi ale PEF (73,56 ± 15,85%) (r = 0,68; p < 0,0001) (**fig. 8/8, b**).

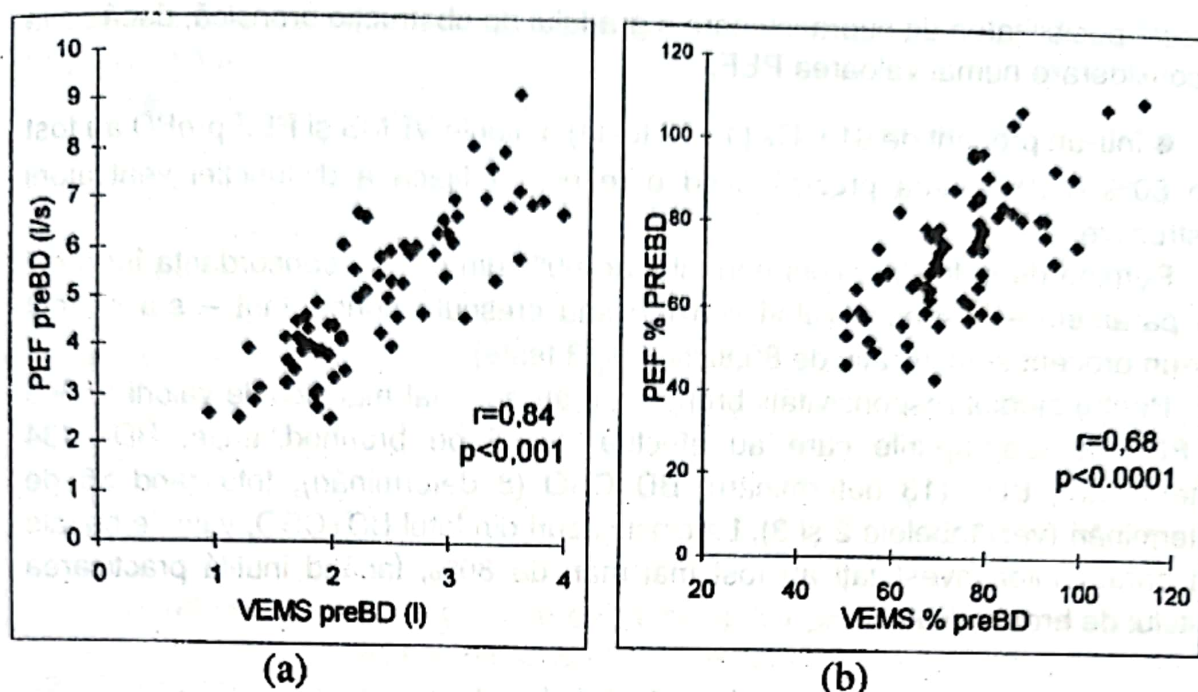


Fig. 8.8 – Corelația între valoarea absolută (a) și procentuală (b) a VEMS și PEF (n=73)

Urmărind concordanța între valoarea procentuală preBD a VEMS și PEF pe întreg lotul de testări, s-au evidențiat:

- la 19,17% (14/73 testări) valori bazale ale VEMS și PEF preBD peste 80% din prezis, valoare considerată limita de jos a variației fiziologice. În nouă cazuri, erau rezultate ale testelor unor astmatici cu obstrucție distală, la care valorile bazale ale VEMS și PEF > 80% sunt caracteristice. În cinci cazuri, erau rezultate ale testelor unor astmatici cu răspuns inițial negativ la testul de bronhodilatație, care au urmat tratament cortizonic timp de șapte zile, după care s-a obținut o reversibilitate bună a obstrucției bronșice, evidențiabilă atât prin normalizarea VEMS-ului cât și a PEF-ului. La aceste cazuri nu a mai fost necesar testul de bronhodilatație;

- într-un procent de 13,69% (10/72 teste), valoarea PEF preBD a fost de peste 80% din valoarea prezisă, în condițiile în care VEMS-ul preBD era sub 80% din prezis. Din cele 10 cazuri, șase au fost încadrate pe baza modificării VEMS-ului în lotul BD+ și patru în lotul BD+CSO. Dacă s-ar lua în calcul numai valoarea PEF preBD, astfel de cazuri ar fi pierdute din vedere. Subestimarea lor ar duce la încadrări de diagnostic greșite și la o conduită terapeutică neadecvată. Subestimarea ar fi și mai gravă la cele patru cazuri care au necesitat terapie cortizonică pentru restabilirea unui răspuns bronhodilatator adecvat la β_2-agoniști;

- într-un procent de 5,47% (4/73 teste), valoarea PEF preBD a fost sub 80% din valoarea prezisă, în condițiile în care VEMS preBD era peste 80% din prezis. Cele trei cazuri aparțineau lotului de astmatici cu obstrucție distală. Această situație

reflectă posibilitatea de supraestimare a gradului de obstrucție bronșică, dacă se ia în considerare numai valoarea PEF;

● într-un procent de 61,64% (45/73 teste), valorile VEMS și PEF preBD au fost sub 80% din valoarea prezisă, fiind o reflectare tipică a disfuncției ventilatorii obstructive.

Pornind de la limita valorii normale, de 80% din prezis, concordanța între cei doi parametri – respectiv valori scăzute sau crescute concordant – s-a obținut într-un procent semnificativ de 80,82% (59/73 teste).

Pentru studiul responsivității bronșice, s-au apreciat modificările valorii VEMS și PEF la subgrupurile care au efectuat testul de bronhodilatație: BD+ (34 determinări), BD– (13 determinări), BD+CSO (8 determinări), totalizând 55 de determinări (vezi tabelele 2 și 3). La cinci cazuri din lotul BD+CSO, valorile bazale ale parametrilor investigați au fost mai mari de 80%, făcând inutilă practicarea testului de bronhodilatație.

a) Rezultatele la toate cazurile cu test de bronhodilatație (n = 55)

Rezultatele obținute pentru cele 55 de probe efectuate relevă:

■ între valorile bazale ale celor doi parametri, VEMS preBD și PEF preBD:

- comparând valorile lor absolute, s-a evidențiat o corelație directă puternică (r = 0,81) (**tabelul nr. 2**).
- comparând valorile lor procentuale față de prezis, s-a evidențiat o corelație de intensitate mijlocie (r = 0,60).

Tabel nr. 2

Valorile absolute ale VEMS și PEF, modificarea lor postBD (media și SD), coeficientul de corelație și semnificația statistică

Parametrii corelați	Toate cazurile cu test BD (n = 55)	Cazuri BD+ și BD+CSO (n = 42)	Cazuri BD– (n = 13)
VEMS preBD (l) – PEF preBD (l/s)	2,21 ± 0,66 l 4,73 ± 1,32 l/s r = 0,81; p < 0,0001	2,26 ± 0,67 l 4,83 ± 1,41 l/s r = 0,81; p < 0,0001	2,07 ± 0,64 l 4,39 ± 0,93 l/s r = 0,79; p < 0,01
VEMS postBD(l) – PEF postBD (l/s)	2,58 ± 0,78 l 5,39 ± 1,58 l/s r = 0,82; p < 0,0001	2,70 ± 0,75 l 5,67 ± 1,58 l/s r = 0,78; p < 0,0001	2,16 ± 0,77 l 4,49 ± 1,25 l/s r = 0,82; p < 0,0001
VEMS preBD (l) – VEMS post BD (l)	p < 0,01	p < 0,001	p > 0,05
PEF preBD (l/s) – PEF postBD (l/s)	p < 0,0001	p < 0,05	p > 0,05

■ valorile obţinute în urma testului de bronhodilatare pentru VEMS postBD şi PEF postBD au evidenţiat:

- comprararea valorilor absolute şi procentuale faţă de prezis, a relevat o corelaţie directă puternică (r= 0,82, respectiv 0,73) (**tabelul nr. 2**)
- la administrarea β_2-agonistului, s-au obţinut modificări ale VEMS şi PEF (% modif), caracterizate printr-o corelaţie puternică (r = 0,77; p < 0,0001).

Dacă se compară valorile preBD cu cele postBD ale fiecărui parametru, se constată o bună reversibilitate a obstrucţiei bronşice, evidenţiată prin:

- compararea valorilor absolute şi a celor procentuale ale VEMS preBD cu cele postBD, se obţine o diferenţă extrem de semnificativă (p < 0,0001) (**tabelul nr. 2**);
- compararea valorilor absolute şi a celor procentuale ale PEF preBD cu cele post BD, diferenţa este foarte semnificativă (p<0,01) (**tabelul nr. 2**).

b) Rezultatele la cazurile cu răspuns BD pozitiv

Rezultatele obţinute la cazurile cu răspuns BD pozitiv (n = 42), relevă date similare cu cele obţinute pe întreg lotul: o corelaţie directă strânsă între VEMS preBD şi PEF preBD, în valori absolute (r = 0,81) şi moderată, când se compară valorile procentuale (r = 0,61). VEMS postBD se corelează puternic cu PEF postBD, atât ca valoare absolută (r = 0,78), cât şi procentuală (r = 0,72). Modificarea procentuală indusă de administrarea β_2-agonistului se caracterizează printr-o corelaţie puternică între VEMS %modif şi valoarea corespondentă a PEF %modif (r = 0,72, p < 0,0001).

Dacă se compară valorile preBD cu cele postBD ale fiecărui parametru se constată că responsivitatea la testul de bronhodilataţie induce modificări statistic semnificative atât pentru VEMS cât şi pentru PEF (p < 0,001) (**tabelul nr. 2**).

c) Rezultatele la cazurile cu răspuns BD negativ

Rezultatele obţinute la cazurile cu răspuns BD negativ (n = 13), relevă variaţii nesemnificative ale VEMS şi PEF şi modificări reduse la testul de bronhodilataţie, atât în valoare absolută, cât şi procentuală faţă de prezis (VEMS %modif de 1,53 ± 5,84%, respectiv PEF %modif de 3,61 ± 9,49%). Datorită reflectării aceluiaşi răspuns bronhodilatator redus de către ambii parametrii corelaţia dintre VEMS %modif şi PEF %modif corespondent este păstrată (r= 0,60, p < 0,05) (**tabelul nr. 2**).

- *Modificarea procentuală a VEMS şi PEF la testul de bronhodilataţie*

Pentru a stabili mai exact dacă VEMS şi PEF reflectă în mod similar gradul de responsivitate bronşică la administrarea β_2-agoniştilor, s-au separat rezultatele testelor ventilometrice în funcţie de valoarea considerată semnificativă pentru un test BD+, respectiv o creştere a VEMS sau PEF mai mare sau egală cu 15% faţă de valorile bazale. S-au obţinut patru grupe de rezultate ale testului de bronhodilataţie:

● un grup cu valoare VEMS %modif ≥ 15% și PEF %modif ≥ 15%. Este grupul cu cea mai mare pondere, 58,18% (32/55 teste), cel ai pacienților cu test BD+ reflectat în aceeași măsură de modificarea ambilor parametri;

● un grup cu valoare VEMS %modif < 15% și PEF %modif < 15%, într-o proporție de 18,18% (10/55 teste). Este grupul cu test BD– reflectat în aceeași măsură de modificarea ambilor parametri;

● un grup cu valoarea VEMS %modif ≥ 15% și PEF %modif < 15%, într-o proporție de 18,18% (10/55 teste). Este grupul cu test BD+ reflectat prin creșterea VEMS-ului dar nesusținut și de modificarea PEF. Acest grup atestă posibilitatea unor aprecieri eronate asupra responsivității bronhomotorii, respectiv de subestimare a răspunsului la β_2-agoniști, dacă se recurge la determinarea unilaterală a PEF;

● un grup cu valoarea VEMS %modif < 15% și PEF %modif ≥ 15%, într-o proporție de 5,45% (3/55 teste). Este grupul cu test BD– reflectat de modificarea nesemnificativă a VEMS-ului, dar cu o creștere semnificativă a PEF. Și în cazul acestui grup se evidențiază posibilitatea unor aprecieri eronate asupra responsivității bronhomotorii, respectiv de supraestimare a răspunsului la β_2-agoniști, dacă se determină unilateral PEF-ul.

2. Corelația VEMS și PEF cu debitele expiratorii medii ($FEF_{x\%}$)

Pe lotul de astmatici luat în studiu, s-a urmărit corelația între VEMS și PEF, considerați parametri standard pentru obstrucția bronșică și debitele medii expiratorii maxime ($FEF_{x\%}$) și între acești parametri de pe curba flux-volum și Raw și sGaw, obținute prin pletismografie computerizată. Responsivitatea bronșică reflectată prin variația procentuală a debitelor medii expiratorii maxime la testul de bronhodilatație este redată în **figura 8/9.**

● *Corelația $FEF_{25\%-75\%}$ cu VEMS și PEF*

La lotul de 73 de testări, corelația între $FEF_{25\%-75\%}$ și VEMS este puternică, dacă se iau în considerare valorile absolute ($FEF_{25\%-75\%}$ = 1,86 ± 1,02 l/s) (r = 0,75; p < 0,0001) și de intensitate medie, dacă se iau în considerare valorile procentuale față de prezis ($FEF_{25\%-75\%}$ = 53,36% ± 25,48%) (r = 0,67; p < 0,0001).

Corelația între $FEF_{25\%-75\%}$ și PEF este similară cu VEMS-ul: puternică, dacă se iau în considerare valorile absolute (r = 0,71; p < 0,0001) și de intensitate medie, dacă se iau în considerare valorile procentuale față de prezis (r = 0,68; p < 0,01). Corelația între valorile absolute ale $FEF_{25\%-75\%}$, pe de-o parte, și VEMS sau PEF, pe de altă parte, se menține și pe subgrupe: lot cu test de bronhodilatație (n = 55); lot BD+ (n= 42) și lot BD– (n = 13).

La lotul cu test de bronhodilatație și lotul BD+ se constată o corelație mai bună între valorile procentuale ale $FEF_{25\%-75\%}$ și VEMS față de cele absolute și invers, o

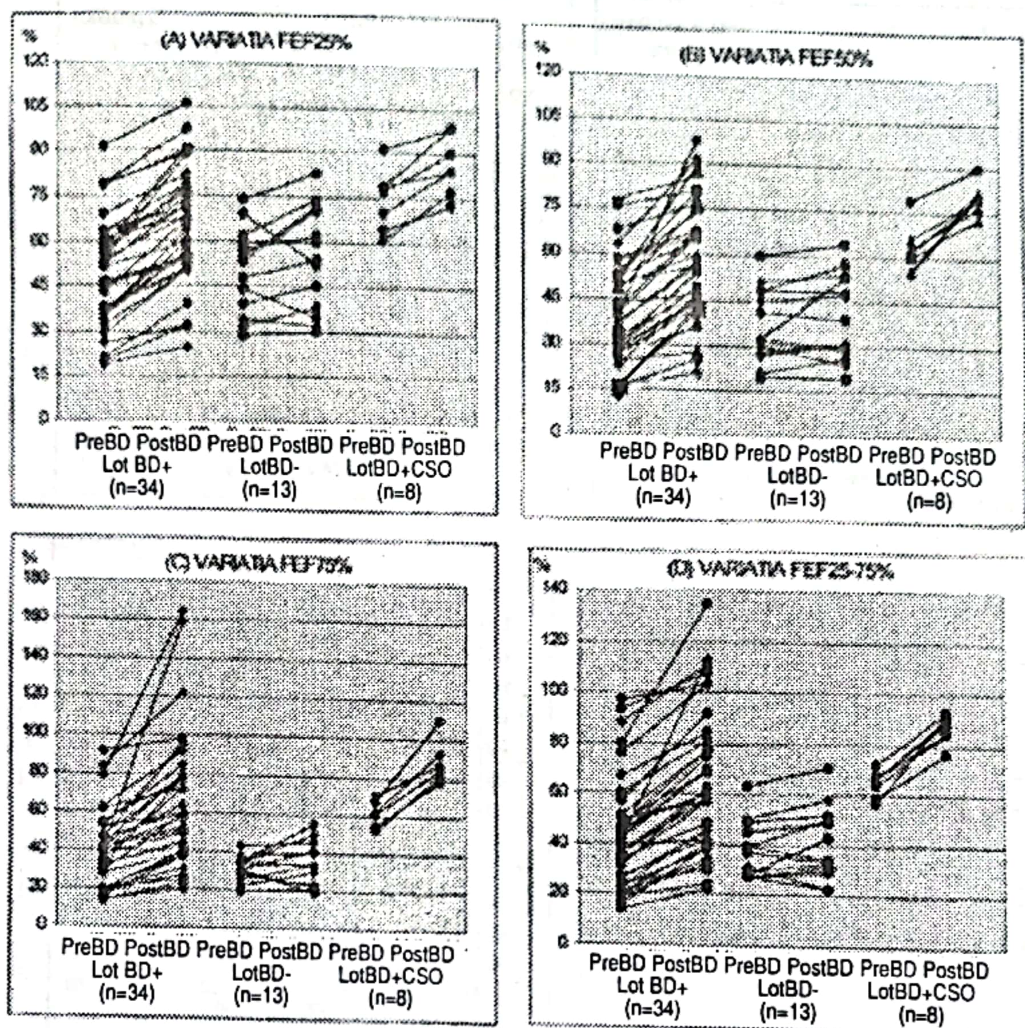


Fig. 8.9 – Responsivitatea bronşică reflectată prin variaţia procentuală a debitelor medii expiratorii maxime la testul de bronhodilataţie, la lotul de astmatici cu DVO (preBD: valori înainte de bronhodilatator; postBD: valori la 10 minute după bronhodilatator)

corelaţie mai bună între valorile absolute ale $FEF_{25\%-75\%}$ şi PEF faţă de cele procentuale. Corelaţia este mai puternică între valorile post BD ale celor trei parametri (r = 0,75, respectiv r = 0,71). $FEF_{25\%-75\%}$ %modif se corelează mai puternic cu VEMS %modif (r = 0,75) **(fig. 8/10)** şi moderat cu PEF %modif (r= 0,66).

● *Corelaţia $FEF_{x\%}$ cu VEMS şi PEF*

Valoarea debitelor expiratorii maxime instantanee este dependentă de rezistenţa la flux dezvoltată în căile aerifere mici, de reculul elastic pulmonar şi de volumul pulmonar. Aceste debite sunt considerate indicatori precoce ai obstrucţiei bronşice distale, chiar în condiţiile menţinerii VEMS-ului în limitele normale.

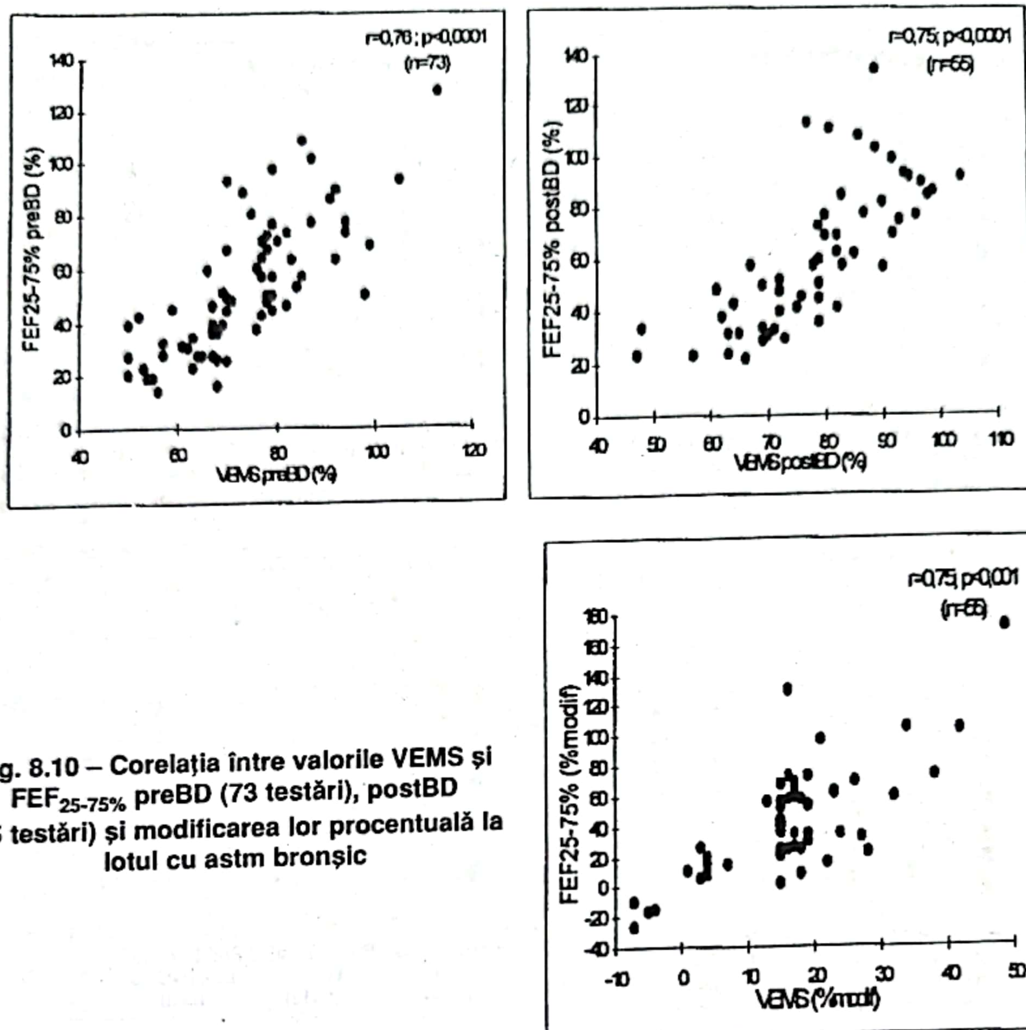


Fig. 8.10 – Corelația între valorile VEMS și $FEF_{25-75\%}$ preBD (73 testări), postBD (55 testări) și modificarea lor procentuală la lotul cu astm bronșic

La lotul de astmatici investigat, determinarea acestor parametri a permis obiectivarea sindromului obstructiv distal în 13 cazuri (21,66%), la care valoarea VEMS, PEF și Raw era în limite normale.

Corelația între valorile inițiale ale $FEF_{x\%}$ cu VEMS și PEF la întreg lotul de testări (n = 73), evidențiază valori apropiate pentru $FEF_{50\%}$ și $FEF_{75\%}$. În cazul $FEF_{25\%}$, parametrul înregistrat în prima parte a curbei expirografice, la volume pulmonare mari, corelația cu VEMS și PEF este cea mai puternică (r =0,74).

Urmărind reflectarea responsivității bronhomotorii la testul de bronhodilatație (n= 55) prin modificarea $FEF_{x\%}$ în comparație cu reflectarea sa prin modificarea VEMS, se evidențiază o corelație bună în cazul tuturor debitelor medii (**tabelul nr. 3**).

Corelația între modificarea procentuală a VEMS și a $FEF_{50\%}$ este cea mai puternică (r = 0,77) și este apropiată de corelația între VEMS modif% cu $FEF_{25-75\%}$ modif% (r = 0,75) și respectiv cu PEF modif% (r = 0,79).

Tabelul nr. 3.

Corelația $FEF_{x\%}$ modif% cu modificarea VEMS, PEF, Raw, Gaw și sGaw la testul de bronhodilatație (n = 55)

$FEF_{x\%}$ modif%	corelația cu VEMS modif%	corelația cu PEF modif%	corelația cu Raw modif%	corelația cu Gaw modif%	corelația cu sGaw modif%
$FEF_{25-75\%}$ modif%	r = 0,75	r = 0,66	r = 0,80	r = 0,45	r= 0,53
$FEF_{75\%}$ modif %	r = 0,60	r = 0,51	r = 0,70	r = 0,42	r = 0,47
$FEF_{50\%}$ modif%	r = 0,77	r = 0,65	r = 0,70	r = 0,38	r = 0,55
$FEF_{25\%}$ modif%	r = 0,65	r = 0,53	r= 0,76	r = 0,47	r = 0,49

Dacă modificarea VEMS-ului postBD se consideră standardul, modificările PEF, $FEF_{50\%}$ și $FEF_{25-75\%}$ postBD pot fi considerate indicatorii cei mai fideli ai răspunsului bronhomotor, obținuți pe curba flux-volum.

- *Corelația $FEF_{25\%-75\%}$ cu $FEF_{75\%}$, $FEF_{50\%}$ și $FEF_{25\%}$*

Corelația între valorile inițiale ale $FEF_{25\%-75\%}$ și $FEF_{x\%}$ este puternică, atingând cea mai mare valoare pentru debitele expiratorii înregistrate în cea de-a doua parte a curbei expirografice, respectiv $FEF_{75\%}$ și $FEF_{50\%}$ (r= 0,91), în timp ce pentru $FEF_{25\%}$ este de 0,83.

Reflectarea răspunsului la testul de bronhodilatație prin modificarea valorii debitelor expiratorii maxime instantanee este apropiată. Corelația între modificarea procentuală a $FEF_{25\%-75\%}$ și $FEF_{50\%}$ este cea mai puternică (r = 0,75). Corelația între modificarea procentuală a $FEF_{25\%-75\%}$ și $FEF_{75\%}$ este de asemenea puternică (r = 0,73) iar corelația cu $FEF_{25\%}$ este moderată (r = 0,61).

3. Corelația Raw și sGaw determinate pletismografic cu VEMS, PEF, $FEF_{x\%}$ (principalii parametri de pe curba flux-volum)

Urmărind valorile Raw și a celor trei parametri principali de pe curba flux-volum (VEMS, PEF, $FEF_{25\%-75\%}$), la cele 73 de testări, se constată lipsa unei corelații ale Raw preBD cu valorile corespondente ale VEMS preBD, PEF preBD și $FEF_{25\%-75\%}$.

Din totalul de teste în care s-a obiectivat prezența obstrucției bronșice, numai în 33 de cazuri valoarea inițială a Raw a fost crescută. În toate aceste cazuri cu Raw inițial crescut, scăderea indusă la testul de bronhodilatație (Raw postBD) se corelează cu creșterea postBD a celor trei parametri principali de pe curba flux-volum, fapt evidențiat printr-un indice de corelație inversă moderată, conform **tabelului nr 4.**

Răspunsul bronhodilatator se reflectă semnificativ și prin modificarea procentuală a Raw față de valoarea inițială (Raw %modif). Între modificarea procentuală a Raw față de valoarea inițială și modificarea față de valoarea inițială (%modif) a VEMS, PEF și $FEF_{25\%-75\%}$ s-a evidențiat o corelație puternică inversă

(**fig. 8/11**). De asemenea, modificarea Raw se corelează puternic cu celelalte $FEF_{x\%}$, cu valori ale indicelui de corelaţie între 0,70 şi 0,76.

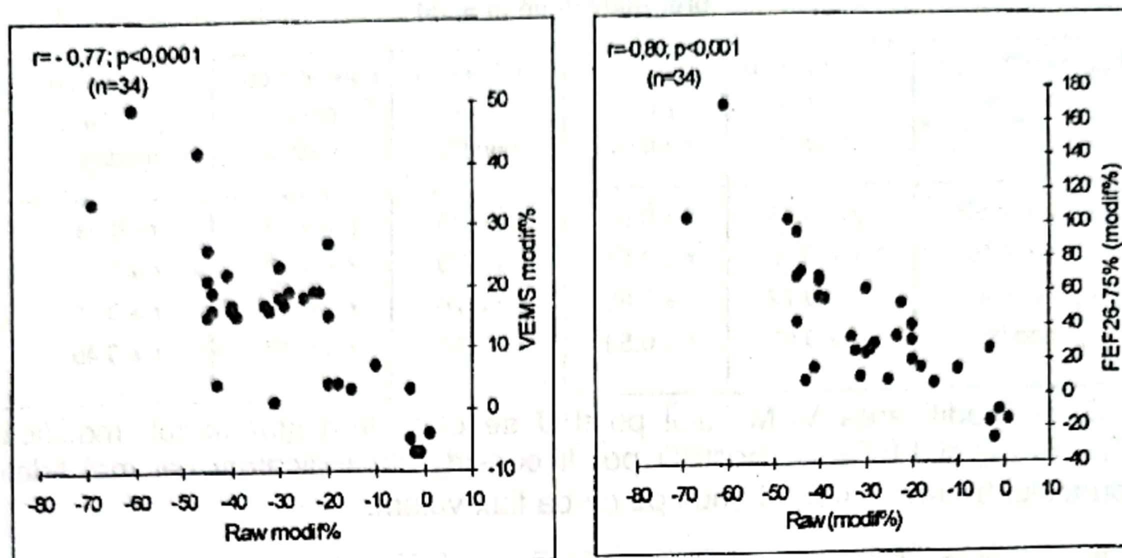


Fig. 8.11 – Responsivitatea bronhomotorie reflectată prin corelaţia între modificarea procentuală indusă de β_2-agonişti asupra Raw, VEMS şi $FEF_{25-75\%}$ la lotul cu astm bronşic şi Raw iniţial crescut

Între Raw şi sGaw se constată o corelaţie inversă, mai puternică în cazul valorilor iniţiale preBD (r = –0,76), respectiv creşterea Raw se însoţeşte de scăderea corespunzătoare a sGaw în toate cele 33 de cazuri de Raw crescut. Cu toate că cei doi parametri pletismografici se corelează, nu se înregistrează o corelaţie semnificativă a sGaw cu cei trei parametri principali de pe curba flux-volum, care să justifice includerea sa între parametrii de primă linie în aprecierea obstrucţiei bronşice şi a gradului de responsivitate la testele de bronhodilataţie (**tabelul nr. 4**).

Tabel nr. 4

Corelaţia Raw cu VEMS, PEF, $FEF_{25\%-75\%}$ şi sGaw

VALOARE Raw	CORELAŢII CU ALŢI PARAMETRI			
Raw preBD (126,52 ± 66,23%) (n = 73)	VEMS preBD r = 0,36	PEF preBD r = –0,34	$FEF_{25\%-75\%}$ preBD r = –0,36	sGaw preBD r = 0,76
Raw post BD (129,29 ± 42,91%) (n = 33)	VEMS preBD r = –0,66	PEF preBD r = –0,55	$FEF_{25\%-75\%}$ postBD r = –0,65	sGaw preBD r = –0,57
Raw %modif (–29,58 ± 17,20%) (n = 33)	VEMS %modif r = –0,77	PEF %modif r = –0,73	$FEF_{25\%-75\%}$ %modif r = –0,80	sGaw % modif r = –0,62

DISCUŢII

● *Corelaţia VEMS–PEF în aprecierea gradului de obstrucţie bronşică şi/sau a responsivităţii bronşice*

Prezenţa obstrucţiei bronşice este atestată, în mod curent, de reducerea VEMS-ului şi a PEF-ului. Punerea la punct a unor aparate uşor de manevrat, ieftine şi accesibile, respectiv a mini peack flow-meterelor portabile, a făcut din determinarea PEF-ului o metodă facilă de evaluare a calibrului bronşic şi a răspunsului la terapia bonhodilatatoare (HARGREAVE F.E., 1990, DEKKER F. V., 1992, MADAMA V. C., 1993, CAUTRIN D., 1994, GOLD W. M., 1994). Începând cu anii '70, această metodă a devenit un test screening, de monitorizare a obstrucţiei căilor respiratorii şi a reversibilităţii sale. Larga utilizare a monitorizării PEF-ului se bazează pe rezultatele unor studii care atestă o bună corelaţie între VEMS şi PEF la pacienţii astmatici, cu un coeficient de corelaţie variind între 0,8 şi 0,89 (CONNELLY C. K., 1987, KELLY C., 1988, MELTYER C., 1989, VAUGHAN T., 1989, GAUTRIN D., 1994). Buna corelaţie între VEMS şi PEF se reflectă şi la lotul investigat, printr-un indice de corelaţie înaltă ($r = 0,84$; $p < 0,001$).

O serie de autori au ridicat problema unei posibile discordanţe între modificările VEMS-ului şi PEF-ului, care ar putea duce la interpretări eronate (BERUBE D., 1991, GAUTRIN D., 1994). Modificările VEMS-ului pot fi subestimate şi mai rar supraestimate, comparativ cu modificările PEF-ului.

Rezultatele obţinute relevă o bună corelaţie între valoarea VEMS şi PEF şi între modificarea lor procentuală, ca indicatori ai responsivităţii bronşice în urma testului de bronhodilataţie. Corelarea lor este importantă atunci când:

● se evaluează gradul de obstrucţie bronşică, interesând reducerea procentuală a valorii celor doi parametri, faţă de valorile prezise;

● se evaluează gradul de responsivitate bronşică, interesând creşterea valorii parametrilor şi modificarea procentuală fâţă de valorile bazale, considerată semnificativă când ≥ 15%;

● se evaluează eficienţa terapeutică, în cazul de faţă, răspunsul la β_2-agonişti după corticoterapie, la cazurile care la prima evaluare nu au răspuns la testul de bronhodilataţie.

Posibilităţie de estimare greşită a severităţii obstrucţiei bronşice şi/sau a responsivităţii la BD includ, aşa cum s-a evidenţiat mai sus, fie valori disproporţionate ale PEF-ului bazal faţă de cele ale VEMS-ului, fie modificări procentuale disproporţionate ale PEF-ului faţă de VEMS ca răspuns la testul de bronhodilataţie:

● în cazul unor valori reduse ale PEF preBD, nesusţinute şi de valori concordante ale VEMS preBD, obstrucţia bronşică poate fi supraevaluată şi invers, în

cazul unor valori în limite fiziologice ale PEF preBD dar cu VEMS preBD < 80% din valoarea prezisă, obstrucţia poate fi subevaluată;

- modificarea PEF ≥ 15% la testul de bronhodilataţie, nesusţinută de creşterea VEMS duce la supraevaluarea responsivităţii bronhomotorii şi, în final, la atitudini terapeutice inadecvate, în timp ce o modificare a PEF mai mică de 15%, în condiţiile unei modificări a VEMS de peste 15%, ar subevalua responsivitatea bronhomotorie, dacă ar fi singurul parametru luat în considerare. În această situaţie, s-ar putea trece la o modificare a terapiei care, de fapt, este inutilă.

Datele obţinute vin în sprijinul susţinerii supremaţiei VEMS-ului ca parametrul cel mai sensibil şi reproductibil pentru aprecierea obstrucţiei bronşice şi a responsivităţii bronhomotorii. ENRIGHT P. şi colab., 1991 şi 1994 consideră determinarea VEMS-ului ca „standardul de aur" şi îl consideră de neînlocuit în urmărirea obstrucţiei bronşice, datorită gradului mai mic de variabilitate individuală.

O explicaţie a diferenţei între modificarea procentuală a VEMS-ului şi a PEF-ului corespondent, ca răspuns la testul de bronhodilataţie al astmaticilor, ţine strict de mecanismele fiziologice: VEMS-ul reflectă atât calibrul căilor respiratorii proximale, cât şi periferice (a căror îngustare este caracteristică în astmul bronşic), în timp ce PEF-ul reflectă calibrul căilor respiratorii proximale (KNUDSON R. D., 1983, NUNN A. J., 1989).

Practica monitorizării subiecţilor astmatici prin PEF este destul de frecventă, datorită simplicităţii de efectuare practică a manevrelor, atât în spital, cât şi la domiciliu (HIGGINS B., SHAPIRO S., 1991). Simpla scădere a PEF ≥ 15% , nu poate fi considerată ca unic indicator de modificare a tratamentului, după cum menţinerea relativ constantă a PEF nu poate atesta, în mod absolut, eficienţa tratamentului (SHAPIRO S., 1991, MADAMA V. C. şi GAUTRIN D., 1993, ENRIGHT P., 1994). Măsurarea calibrului căilor respiratorii nu este singurul parametru utilizat în controlul astmului, ci în asociere cu o serie de parametri clinici: frecvenţa şi intensitatea simptomelor diurne şi/sau nocturne, toleranţa la efort, necesarul de β_2-agonişti (BREVIS R., 1991).

În prezent se testează eficienţa unor sisteme portabile, care măsoară nu numai PEF-ul ci şi VEMS-ul. Aceste sisteme ar putea oferi o mai corectă monitorizare a variabilităţii obstrucţiei bronşice, la domiciliu (GAUTRIN D., 1993).

European Respiratory Society şi American Medical Association recomandă efectuarea spirometriei pentru stabilirea statusului bazal al pacienţilor cu afecţiuni respiratorii obstructive şi consideră VEMS-ul cel mai reproductibil parametru ventilometric. Valoarea VEMS variază invers şi liniar cu gradul de obstrucţie bronşică atât la pacienţii astmatici cât şi la cei cu BPOC. VEMS-ul este un indicator mult mai sensibil al obstrucţiei bronşice faţă de scorul clinic şi datele obţinute la examenul clinic: chiar pacienţii astmatici cu un scor clinic de 2–3, au prezentat în proporţie de 8,33% un VEMS < 80%.

b) Corelația VEMS și PEF cu $FEF_{25\%-75\%}$, Raw și sGaw în aprecierea gradului de obstrucție bronșică și a responsivității bronșice

Debitele de aer măsurate la volume mari sunt indicatori mai puțin sensibili pentru funcția căilor respiratorii mici, deoarece depind de intensitatea efortului depus de subiect (RHODES M. L., 1987, MADAMA V. C., 1993, GOLD W. M., 1994, DUȚU ȘT., 1997). PEF-ul corespunde porțiunii inițiale a manevrei expiratorii, cea mai puternic influențată de intensitatea efortului, astfel încât, valoarea redusă a PEF reflectă mai repede un efort submaximal decât prezența unei obstrucții bronșice (GOLD W. M., 1994). În efortul expirator maximal, fluxul de aer depinde de calibrul căilor respiratorii mari și este influențat de compresia aerului din căile respiratorii centrale. Datorită acestui fapt, reducerea semnificativă a PEF-ului este o caracteristică a obstrucțiilor moderate/severe și apare rar în obstrucțiile ușoare (RUPPEL G., 1994, GOLD W. M., 1994).

Debitele expiratorii medii, măsurate la volume mici de aer, mai ales $FEF_{25\%-75\%}$, sunt mai puțin dependente de intensitatea efortului depus de subiect. Acești parametrii reflectă porțiunea intermediară și finală a manevrei expiratorii, cea mai puțin infleunțată de intensitatea efortului. Valoarea $FEF_{25\%-75\%}$ este dependentă de geometria și funcția căilor respiratorii, fiind un indicator al funcției căilor respiratorii periferice, locul unde se consideră că încep afecțiunile obstructive cronice (RHODES M. L., 1987, GOLD W. M., 1994, KELLER C. A., 1995, BADIER M., 1995). Reducerea sa, în condițiile menținerii unui VEMS și Raw în limite normale, este o caracteristică a obstrucției bronșice distale (MADAMA V. C., 1993, GOLD W. M., 1994, DUȚU ȘT., 1997). Valoarea $FEF_{25\%-75\%}$ prezintă mari variații interindividuale iar intervalul de confidență 95% pentru valori normale este larg, ceea ce face ca sensibilitatea metodei în decelarea obstrucției bronșice să fie redusă. RUPPEL G., 1994 și GOLD W. M, 1994 consideră că limita inferioară a valorii normale a $FEF_{25\%-75\%}$ este de 65% din prezis. La lotul investigat, valoarea $FEF_{25\%-75\%}$ se corelează puternic cu valoarea VEMS-ului ($r = 0,75$; $p < 0,0001$) și a PEF-ului ($r = 0,71$; $p < 0,0001$). Față de celelalte debite expiratorii medii, $FEF_{25\%-75\%}$ poate fi considerat cel mai fidel parametru în aprecierea obstrucției bronșice distale.

În obstrucțiile bronșice distale incipiente, valoarea Raw este în limite normale. În evoluța astmului bronșic, odată cu instalarea unei obstrucții bronșice importante, valoarea Raw poate fi crescută, de două până la trei ori față de valorile normale, chiar în formele stabilizate de boală. În aceste condiții, creșterea Raw poate fi considerată un indicator al obstrucției bronșice (BUNU C., 1994, 1995, SCHNEIDER F., 1995, 1996, DUȚU ȘT., 1997) și după MADAMA (1994) un indicator al severității afecțiunii.

La lotul de astmatici studiat, dacă se raportează aprecierea severității obstrucției bronșice prin scăderea VEMS-ului, la aprecierea sa prin creșterea Raw,

se constată o reflectarea similară în 29 de cazuri (48,33%) și diferită în 31 de cazuri (51,66%) (dintre care, în 19 cazuri, valoarea Raw era în limite normale, în condițiile unei valori scăzute a VEMS <80%). Datele relevă că valoarea Raw nu poate fi luată în considerare ca indicator singular al gradului de obstrucție bronșică, ci numai prin coroborarea sa cu valoarea altor parametri. Datorită faptului că porțiunii distale a arborelui bronșic îi revine un rol redus în geneza rezistenței la flux (10–12%), este posibilă dezvoltarea unui grad considerabil de obstrucție la acest nivel, fără o reflectare semnificativă în valoarea Raw (PATTON H. D., 1989, SELCURT E. E., 1989, SCHNEIDER F., 1995, 1996, DUȚU ȘT. 1997).

Modificarea Raw la testul de bronhodilatație (scăderea Raw ≥ 40%), este considerată relevantă pentru o reversibilitate bună a obstrucției bronșice, respectiv un indicator indirect al participării contracției mușchiului neted la reducerea calibrului căilor aerifere (RHODES M. L., 1987, SCHNEIDER F., 1995, 1996, DUȚU ȘT., 1997). La lotul investigat, testul pozitiv la bronhodilatatorul inhalator, reflectat prin creștera VEMS ≥ 15% a fost reflectat și de scăderea Raw ≥ 40%, în toate cazurile. Într-un singur caz, scăderea Raw ≥ 40% nu a fost reflectată și de creșterea corespunzătoare a VEMS-ului, testul fiind apreciat ca negativ. Pe baza studiilor sale pe un lot de 148 de pacienți astmatici simptomatici, DUȚU (1997) consideră că deși parametrul cel mai frecvent utilizat în aprecierea responsivității bronhomotorii este VEMS-ul, modificarea Raw ar fi mai sensibilă. Argumentarea acestei concluzii se bazează pe faptul că testele care reflectă cel mai fidel răspunsul bronhodilatator sunt cele influențate mai ales de creșterea calibrului căilor aerifere mari și mijlocii, în care spasmul musculaturii netede bronșice induce un efect important asupra celorlalți factori care contribuie la îngustarea lumenului ductelor aerifere – respectiv edemul, infiltrația mucoasei și submucoasei cu celule inflamatorii și hipersecreția de mucus. Pe de altă parte, DUȚU (1997) consideră că parametri ventilometrici influențați, în principal, de curgerea aerului prin segmentul distal al arborelui traheo-bronșic sunt indicatori mai puțin sensibili la testul de bronhodilatație. Argumentul în favoarea acestui considerent se bazează pe faptul că în căile aerifere cu diametrul mai mic de 2 mm, efectul agenților bronhodilatatori este mult mai redus, deoarece chiar dacă spasmul musculaturii netede bronșice cedează, calibrul lor rămâne redus datorită hipersecreției de mucus de către celulele calciforme (al căror număr crește la acest nivel în condiții patologice) edemului mucoasei și congestiei capilare.

Sunt studii care consideră că există o corelație semnificativă între diametrul bronhiolar mediu și sGaw, care permite decelarea precoce a obstrucției bronșice, chiar înaintea scăderii VEMS-ului și că sGaw se corelează cu $FEF_{25-75\%}$ (NIEWOCHNER D.E., 1974, HOPPIN F. G., 1978, VAN BRABANDT A., 1983, BASSINI A.G., 1997). Rezultatele studiilor noastre nu au relevat o bună corelație între valorile bazale ale sGaw și $FEF_{25-75\%}$. Urmărind valorile Raw și sGaw la lotul

cu răspuns BD+ și cel BD–, se evidențiază că Raw și sGaw se corelează, ca indicatori ai prezenței obstrucției bronșice inițiale, respectiv creșterea Raw se însoțește de scăderea corespunzătoare a sGaw în toate cazurile. Dacă pentru valorile Raw la cele două loturi, nu sunt diferențe semnificative, pentru valorile sGaw, diferențele au fost statistic semnificative ($p < 0,1$). Rezultatele arată că scăderea mai importantă a sGaw reflectă un grad de obstrucție mai important și o responsivitate bronhomotorie diminuată. În plus, la analiza sGaw, s-a constatat o diferență marginal semnificativă ($p < 0,5$) între valoarea sa la loturile cu „aer captiv" cu răspuns bronhodilatator pozitiv față de cel cu răspuns negativ. Și în acest caz, sGaw se dovedește, indirect, mai sensibil decât Raw în reflectarea gradului de obstrucție bronșică și a nivelului de alterare a responsivității bronșice.

CONCLUZII

Aprecierea severității astmului bronșic cuprinde două dimensiuni, care nu sunt întotdeauna corelate:

- *funcția bazală* – apreciază statusul curent al pacientului și este în relație directă cu gradul de obstrucție bronșică;
- *labilitatea bolii* – apreciază reactivitatea, responsivitatea și potențialul pentru frecvența exacerbărilor (ENRIGHT P., 1994).

1. VEMS-ul este parametrul spirometric cel mai reproductibil în aprecierea funcției pulmonare în condiții bazale, pentru diagnosticul bolii și stabilirea severității ei (RHODES M. L., 1987, MADAMA V. C., 1993, GOLD W. M., 1994, RUPPEL G., 1994, DUȚU ȘT., 1997).
2. PEF-ul se corelează cu VEMS-ul, astfel încât poate fi utilizat ca parametru de apreciere a funcției pulmonare în condiții bazale și în monitorizarea ambulatorie a obstrucției bronșice, prin măsurarea variabilității sale.
3. $FEF_{25\%-75\%}$ este parametrul spirometric care se modifică precoce în obstrucțiile bronșice distale, în condițiile în care valorile VEMS, PEF și Raw sunt în limite normale.
4. Raw și sGaw sunt în multe cazuri de astm bronșic stabilizat în limite normale (deși se pot înregistra creșteri de până la două-trei ori față de valorile normale), astfel încât nu pot fi considerați la fel de utili în aprecierea obstrucției bronșice, în condiții bazale.
5. Aprecierea responsivității bronșice prin testul de bronhodilatație se reflectă în mod uzual prin modificarea VEMS-ului.
6. Corelația bună a modificării VEMS-ului cu modificările PEF, $FEF_{25\%-75\%}$ și Raw relevă că și acești parametri pot fi utilizați în aprecierea gradului de responsivitate bronșică.

7. Gaw se corelează cu Raw, este un parametru sensibil în reflectarea gradului de obstrucție bronșică, dar nu se corelează cu parametri spirografici principali.
8. Rezultatele tuturor investigațiilor pulmonare se corelează semnificativ între ele, cu severitatea bolii și cu responsivitatea bronhomotorie. În lipsa unui „standard de aur" care să măsoare severitatea astmului bronșic, se recomandă efectuarea unei baterii cât mai largi de teste.
9. Avantajul determinării parametrilor pletismografici constă în ușurința de efectuare pentru pacient și în sensibilitatea metodei iar dezavantajul major este legat de necesarul de dotare care face din pletismografie o tehnică scumpă și pretențioasă.

BIBLIOGRAFIE

1. DUȚU T., *Explorarea funcțională pulmonară.* Ed. Medicală, București, 1997.
2. ENRIGHT P. L., LEBOWITZ M. D., COCKROFT D. W., *Physiologic measures: Pulmonary function tests.* Am. J. Respir. Crit. Care Med., 1994, 149: S9–S18.
3. COCKFORT D.W., HARGREAVE F.E., *Airway hyperresponsiveness: definition, measurement, and clinical relevance in Asthma. Its pathology and treatment.* Eds. Kaliner M.A., Barnes P. J., Persson C.G.A., New York, Marcel Dekker, Inc. 1991: 51–72.
4. MIHALAȘ G., PETROIU A., DINU G., SCHNEIDER F., *Studiul reactivității bronșice prin teste de inhalare cu mediatori colinergici.* In vol. al VII-lea Congr. Naț. de Fiziol., București, 1986: 152.
5. BARNES P. J., *New therapeutic approaches.* British Med. Bulletin, 1991, 48 (1): 231–247.
6. MIHALAȘ G., PETROIU A., TULEA E., MATEESCU R., SCHNEIDER F., *Studiul reactivității bronhomotorii nespecifice.* În vol. conf. de fiziol. „Reglarea sistemelor excitabile", Craiova, 1990: 45.
7. BOULET L. P., DENJAN A., *Hyperreactivité bronchique nonallergénique. Méthodes de mesure et reproductibilité.* Rev. Mal. Resp. 1994, 11: 171–178.
8. STERK P. J., FABBRI L. M., et al., *Airway responsiveness: standardised challenge testing with pharmacological, physical and sensitising stimuli in adults.* Eur. Respir. J., 1993, 6: 53–83.
9. BADIER M., et al., *Tests de provocation bronchique. Comparaison de deux methods d'inhalation.* Press Med., 1993, 22: 1169–1174.
10. MIHALAȘ G., PETROIU A., SCHNEIDER F., TUDORAN M., MIHALAȘ G. I., *Nifedipine effects on bronchomotor responsiveness in single doses.* Fiziologia – Physiology, 5/1–2 (7): 21–24.
11. TOWNLEY G. R., et al., *The role of calcium channel blockers in reactive airway disease.* Annals New York Academy of Sciencies, 1988, 522: 732–745.

12. PATEL K. R., *The effect of calcium antagonist, nifedipine in exercise-induced asthma*, Clin. Allergy, 1981, 11: 429–432.
13. PATEL K. R., *The effect of verapamil on histamine and methacholine induced bronhoconstriction.* Clin. Allergy, 1981, 11: 441–447.
14. O'BYRNE P. M., *Eicosanoids and inflammatory cells in asthma.* In AAS 31: Mediators in Airway Hiperractivity. Eds. Nijlamp E., Birkhouser Verlag, Basel, 1990: 85–101.
15. D'BROT J., *Effect of calcium antagonist gallopamil on antigen-induced early and late bronchoconstrictor responses in allergic sheep.* Am. Rev. Resp. Dis., 1989, 139: 915–920.
16. BOWLER S. D., SMITH S. M., et al., *Heparin inhibits the immediate response to antigen in the skin and lungs of allergic subjects.* Am. Rev. Respir. Dis., 1993, 147: 160–163.
17. AHMED T., GARRIGO J., DANTA I., *Preventing bronchoconstriction in exercise-induced asthma with inhaled heparin.* N. Engl. J. Med., 1993, 329: 90–95.
18. POLOSA R., *Time course of changes in adenosine 5-monophosphate airway responsiveness with inhaled heparin in allergic asthma.* J. Allergy Clin. Immunol., 1997, 99: 338–344.
19. MADAMA V. C., *Pulmonary function testing.* Delmar Publishers inc., 1993: 106–147.
20. MAREK W., ULMER W.T., *Dependence of airway resistance and intrathoracic gas volume on airflow and respiratory frequency in health adults.* Pneumologie, 1995, 49 (7): 410–412.
21. BYLIN G., LAGERSTRAND L., et al., *Variability in airway conductance and lung volume in subjects with asthma.* Clin. Physiol., 1995, 15: 207–218.
22. LI J. T., O'CONNELL E. J., *Clinical evaluation of asthma.* Ann. Allergy Asthma Immunol., 1996, 76 (1): 1–13.
23. *Guidelines for the diagnosis and management of asthma.* National Asthma Education Program, Expert Panel Report, National Institutes of Health, Publ. No. 91–3042, Bethesda, Maryland, 1991.
24. RHODES M. L., *Pulmonary function testing; in Internal Medicine;* Stein J. H. (ed); Ed. II, 1987, Little Brown and Comp, Boston/Toronto.
25. GOLD W. M., *Pulmonary function testing;* in Textbook of respiratory medicine; Murray J. F. și Nadel (Med), Ed. II; W. B. Saunders Company, Vol 1: 789–883, 1994.
26. GAUTRIN D., DIAQUINO L. C., GAGNON G., MALO J. L., CARTIER A., *Comparison between PEFR and FEV_1 in monitoring of asthmatic subjects at an outpatient clinic*, Chest, 1994, 106: 1419–1424.
27. DEKKER F. W., SCHRIER A. C., STERK P. J., DIJKMAN J. H., *Validity of peak expiratory flow measurement in assesing reversibility of airflow obstruction*, Torax, 1992, 47: 162–166.
28. HARGREAVE F. E., DOLOVICH J., NEWHOUSE M. T., *The assessment and treatment of asthma*, J. Alergy Clin. Immunol., 1990, 85: 1098–1111.

44. SCHNEIDER F., BUNU C., TĂNASIE G., MEDERLE C., PĂUNESCU V., *Human bronchial responsiveness. Local mecanism of modulation*, Fiziologia, Physiology, 1996, 3, 6: 7–12.
45. BUNU C., MIHALAȘ G., *Ventilometric tests and Raw evaluation*, Fiziologia, Physiology No 3 (11); vol. 6, 1996, p. 31–34.
46. PATTON H. D., *Airway resistance*, in Physiology, ed. 21, W. B. Saunders comp., Philadelphia, 1989, vol 2, p. 1001–1006.
47. SELKURT E. E., *Lung mechanism*, in Physiology, ed. 5, Little Brown and Comp., Boston-Toronto, 1989, p. 373–391.
48. NIEWOCHNER D. E., KLEINERMAN J., *Morphologic basis of pulmonary resistance in human lungs and effects of aging*, J. Appl. Physiol., 1974, 36: 412–418.
49. HOPPIN F. G., GREEN M., *Relationship of central and peripheral airway resistance in dogs*, J. Appl. Physiol., 1978, 44: 728–737.
50. VAN BRABANDT A., CAUBERGS M., VERBEKER E., *Partitioning of pulmonary impedance in excised human and canine lungs*, J. Appl. Physiol., 1983, 55: 1733–1742.
51. BASSINI A. G., GIRGIS R. E., THEODORE J., *Detection of small airway dysfunction using sGAw*, Chest, 1997, 111, 6: 1533–1535.

Lucrarea răspunde unei necesităţi stringente de informare şi instruire a medicilor practicieni, cercetătorilor şi studenţilor interesaţi de stadiul actual al cunoştinţelor referitoare la particularităţile funcţionale şi bazale neuro-umorale şi celulare ale contractilităţii musculaturii netede de la nivelul căilor respiratorii.

Întregind datele noi din literatură cu rezultatele interesantelor cercetări personale, autorii realizează o valoroasă, utilă şi intens trăită operă ştiinţifică.

Oferind cunoştinţe teoretice şi tehnice de mare actualitate şi utilitate, lucrarea se adresează astfel tuturor celor preocupaţi de cunoaşterea şi însuşirea achiziţiilor cognitive şi aplicative noi din domeniul bronhomotricităţii normale şi patologice.

ISBN 973-9320-20-1